



# Caractérisation d'une collection de variétés anciennes de blé pour leur réponse à la mycorhization et impact sur la qualité du grain

Olivier Essiane Ondo

## ► To cite this version:

Olivier Essiane Ondo. Caractérisation d'une collection de variétés anciennes de blé pour leur réponse à la mycorhization et impact sur la qualité du grain. Sciences agricoles. Université de Bourgogne, 2014. Français. NNT : 2014DIJOS071 . tel-01333203

**HAL Id: tel-01333203**

**<https://theses.hal.science/tel-01333203>**

Submitted on 17 Jun 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## **Université de Bourgogne**

Unité mixte de Recherche 1347 AGROECOLOGIE

### **Thèse**

Pour obtenir le grade de  
**Docteur en Science de la vie**  
Spécialité Biologie végétale

Présenté par

**Olivier ESSIANE ONDO**

15 Décembre 2014

## **Caractérisation d'une collection de variétés anciennes de blé pour leur réponse à la mycorhization et impact sur la qualité du grain**

Sous la direction de Daniel Wipf et Silvio Gianinazzi

### **Devant le jury composé de :**

Marielle Adrian,  
Yves Prin,  
Claude Plassard,  
Isabelle Goldringer,  
Jean François Guilloteau,  
Daniel Wipf  
Silvio Gianinazzi,

Pr, Université de Bourgogne  
Chercheur, CIRAD Montpellier  
DR INRA de Montpellier  
DR, INRA, UMR Génétique végétale du Moulon  
Association Graines de Noé  
Pr, Université de Bourgogne  
DR, émérite CNRS

Présidente  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Directeur  
Co-directeur

# REMERCIEMENTS

J'aimerais exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères à mes directeurs de recherche, Messieurs Daniel Wipf et Silvio Gianinazzi pour m'avoir accueilli au sien de l'équipe de recherche. J'aimerais particulièrement souligner leurs qualités humaines, leur savoir-faire, et leur appui moral et financier et leur disponibilité.

Je ne remercierai jamais assez l'association Graines de Noé pour m'avoir permis d'échantillonner sur leur collection d'anciennes variétés de blé au champ et pour avoir fourni les graines nécessaires aux expérimentations. Je remercie particulièrement M Bernard. Ronot pour ses conseils prodigués et l'aide apporté à la réalisation des expériences. Je remercie Madame Vivienne Gianinazzi-Pearson pour m'avoir accueilli et aidé dans la réalisation de ce manuscrit.

Je remercie également Messieurs Dirk. Redecker et Diederik. van Tuinen pour leur avis dans l'analyse des résultats ainsi que M Leonardo. Casieri et Mme Marie Lara Bouffaud pour l'aide apporté dans les analyses statistiques des résultats.

Je remercie particulièrement Mesdames Valérie Monfort, Odile Chatagnier et Annie Colombet pour leur initiation aux techniques du laboratoire. Je remercie également Monsieur Bernard Alixant pour l'aide et les conseils prodigués sur les expérimentations en serre et au champ.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Gouvernement de la République Gabonaise pour m'avoir accordé les moyens financiers nécessaires à la réalisation de ce travail

J'aimerais remercier tout le personnel de l'équipe de recherche pour leur aide et leur disponibilité.

Je remercie du fond du cœur ma famille et toute la communauté gabonaise de Dijon pour leur soutien moral et leurs encouragements sans faille tout au long de cette formation.

J'aimerais aussi remercier tous les étudiants du laboratoire, pour leur patience et leur sens de l'humour qui m'ont permis d'effectuer mes travaux dans une atmosphère sans pareil.

Enfin, un grand merci à tous les ami(es) étudiant(es) qui m'ont soutenu pendant les moments difficiles et dont la patience et la disponibilité n'ont jamais fait défaut.



# RESUME

Le blé (genre *Triticum aestivum*, famille des Poaceae) est une céréale d'intérêt agronomique très important. Certaines variétés très anciennes sont mise de côté pour des variétés plus récentes souvent sélectionnées pour répondre à une culture intensive consommatrice de produits phytosanitaires. L'agriculture biologique, système de production supposant une réduction des intrants chimiques de synthèse afin de préserver l'écosystème, peut se définir comme une pratique où l'emploi d'engrais synthétiques, de pesticides chimiques et d'organismes génétiquement modifiés est prohibé.

Cette pratique gagne de plus en plus en popularité et la superficie des terres cultivées de cette manière a crû de 60 % entre 2000 et 2004, sur la planète. Les contraintes associées à la production de céréales biologiques comprennent la baisse de rendement attribuable aux carences d'éléments nutritifs dans le sol et la concurrence des mauvaises herbes. Au cours des 90 dernières années, les efforts internationaux d'amélioration du blé se sont concentrés sur la hausse du rendement et les paramètres de qualité.

La mise en place d'une base de données des blé basées sur des critères morphologiques, taxonomiques et écologiques et l'introduction des mycorhizes à arbuscules (MA), connues pour aider à la sélection et induire une augmentation de rendement et de qualité de la production, dans l'optique de produire plus dans une agriculture respectueuse de l'environnement pourrait constituer une partie intégrante d'une stratégie appropriée. Cependant, les effets mycorhiziens sur les rendement et la qualité de la production ne sont pas toujours prévisibles et les mécanismes qui régulent ces paramètres qualitatifs des mycorhizes sont largement inconnus.

Le criblage au champ de 53 variétés de blés anciens a montré des différences dans leur aptitude à développer des mycorhizes avec des champignons indigènes. Des plantes analysées, seul cinq variétés étaient toutes mycorhizées au Tallage, alors que toutes l'étaient au stade Epiaison. Au stade Maturation des épis, dix-neuf variétés montraient une diminution de la mycorhization.

L'inoculation avec un inoculum de laboratoire lors de l'expérimentation en serre dans des pots contenant d'une part leur terre habituelle de culture et de l'autre la terre d'Epoisses

montre, qu'avec cet inoculum, toutes les variétés de blé se mycorhizent. Pour les variétés testées, les variétés récentes utilisées en agriculture biologique mycorhizent mieux que les anciennes, mais l'effet mycorhizien sur le rendement est observé uniquement chez des variétés anciennes de blé. Démontrant ainsi un effet variétal sur le développement et l'expression de la symbiose. Les bénéfices de la symbiose sont plus accentués au niveau des phénomènes qualitatifs à savoir la viabilité des grains.

L'apport d'un inoculum commercial lors d'expérimentation en serre dans des pots contenant le même sol, a modifié ces proportions. Cet inoculum a également permis l'amélioration du développement des blés et la qualité des graines de certaines variétés démontrant à la fois l'importance du génome de la plante dans l'expression bénéfique de la symbiose et de l'impossibilité des champignons mycorhizogènes indigènes à assurer le développement optimal de la symbiose. Au champ, l'effet variétal a été confirmé suite à l'apport d'un inoculum commercial ou, à l'exception d'une variété, l'inoculation a permis une amélioration du rendement, particulièrement sensible chez la variété qui a été la plus productive, soulignant l'intérêt qu'il y aurait à développer un projet de croisement pour augmenter la réponse des blés aux mycorhizes.

**Mots-clés :** mycorhizes à arbuscules, variétés anciennes, biomasse, inoculum, qualité du grain

# ABSTRACT

Wheat (kind *Triticum aestivum*, Poaceae family) is a very important cereal of agronomic interest. Some very ancient varieties are set aside for recent varieties often selected to meet a consumer intensive cultivation of pesticides. Organic farming production system assuming a reduction of synthetic chemical inputs in order to preserve the ecosystem can be defined as a practice where the use of synthetic fertilizers, chemical pesticides and genetically modified organisms is prohibited.

This practice is gaining more and more popularity and the amount of land cultivated in this way has increased by 60% between 2000 and 2004. Constraints associated with the production of organic grains include lower yields due to nutrient deficiencies in the soil and weed competition. During the past 90 years, the international efforts in wheat breeding have focused on increasing yield and quality parameters

The establishment of a wheat database based on morphological, taxonomic and ecological criteria and the introduction of arbuscular mycorrhizal (AM), known to help in the selection and induce an increase in yield and quality of production with a perspective to increase production in an agriculture that respects the environment, could be an integral part of an appropriate strategy. However, mycorrhizal effects on yield and quality of production are not always predictable and the mechanisms that regulate these qualitative parameters are largely unknown.

Field screening of 53 ancient wheat varieties showed differences in their ability to interact with endogenous mycorrhizal fungi. Among the analysed plants, only five varieties were mycorrhized for all samples at tillering. All samples were mycorrhized at the heading stage for all varieties. Nineteen showed a decrease in the number of mycorrhized samples at the ears maturity.

Inoculation with a laboratory inoculum during a greenhouse experiments in pots, containing either the wheat field soil or “Epoisses” soil, showed that all wheat varieties form mycorrhizal symbiosis. Between varieties tested, recent wheat varieties used in organic farming were better in forming symbiosis than the old, but the mycorrhizal effect on plant yield is seen only for old varieties. Demonstrating a variety effect on the development and

expression of symbiosis. The benefits of mycorrhizal symbiosis are more pronounced for the qualitative phenomena as the seed viability.

The addition of a commercial inoculum in a similar greenhouse experiment modified these observations. This inoculum helped to improve wheat development but also the seed quality of some varieties, demonstrating both the importance of the plant genome in the beneficial expression of the symbiosis and the impossibility of indigenous mycorrhizal fungi to ensure optimal development of symbiosis. The previously observed field varietal effect was confirmed even after adding an exogenous inoculum as, excepted for one variety, inoculation has improved yield. This was especially noticeable in the variety that was most productive, stressing the importance to develop crossing strategies to increase the wheat response to mycorrhiza.

**Keywords :** arbuscular mycorrhiza, ancient cultivar, biomass, inoculum, grain quality

# Abréviations

**AJ** : Acide Jasmonique.

**AS** : Acide Salicylique.

**BEG** : Banque européenne des Glomeromycètes.

**CMA** : Champignons mycorhizogènes à arbuscules

**CTE** : Contrat Territorial d'Exploitation.

**CTPS** : Comité Technique Permanent de la Sélection.

**Dj** : Degrés jour.

**EPA** : Espace périarbusculaire.

**ET** : Ethylène

**IBG** : Banque internationale des Glomeromycètes.

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**LCOs** : lipochitooligosaccharides sulfatés

**MA** : Mycorhizes à arbuscules.

**MAEM** : Microbes associés aux échantillons moléculaires.

**MPA** : Membrane périarbusculaire.

**N** : Azote

**P** : Phosphore

**RIM** : Résistance induite par les mycorhizes

**ROS** : Espèces réactives oxygénées

**TTC** : Chlorure de Triphényl Tétrazolium.

# TABLE DES MATIERES

<b>Abréviations .....</b>	<b>7</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>12</b>
<b>Introduction générale .....</b>	<b>16</b>
<b>Le blé, son histoire et son importance pour l'humanité.....</b>	<b>17</b>
<b>La culture du blé.....</b>	<b>20</b>
Généralités .....	20
Les maladies du blé.....	26
Méthode conventionnelle.....	33
Production biologique.....	34
<b>Les collections de ressources génétiques.....</b>	<b>38</b>
Généralités .....	38
Rôle dans l'évolution des pratiques culturelles .....	38
<b>Les microsymbiotes du blé .....</b>	<b>39</b>
Généralités .....	39
Les champignons formant les mycorhizes.....	39
Développement des mycorhizes à arbuscule.....	41
Rôles des mycorhizes dans la nutrition minérale et la résistance aux stress des plantes .....	45
Exploitation des CMA dans les cultures de blé.....	49
<b>Objectifs d'études. ....</b>	<b>51</b>
<b>Chapitre 1 : Matériels et méthodes .....</b>	<b>52</b>
<b>1 – Mise en place de la base de données.....</b>	<b>53</b>
<b>2 – Matériel biologique .....</b>	<b>55</b>
2.1 –Blé .....	55
2.2 – Champignons mycorhizogènes .....	57
<b>3 – Expérimentation au champ de 53 variétés anciennes de blé.....</b>	<b>57</b>
3.1 – Mise en place de la symbiose .....	57
3.2 – Evaluation du taux de mycorhization .....	59
3.3 – Evolution de la symbiose durant le développement du blé .....	61
<b>4 – Expérimentation en serre de 8 variétés anciennes de blé et 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique.....</b>	<b>61</b>
4.1 – Mise en place.....	61
4.2 – Evaluation du taux de mycorhization de 8 variétés anciennes de blé sur de Chazeuil.....	62
4.3 – Evaluation du taux de mycorhization de 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique sur sol de Fenay.....	62

4.4 – Evaluation du taux de mycorhization sur d'Epoisses.....	63
4.5 – Evaluation de la biomasse.....	64
4.5 – Test de viabilité des grains. ....	64
<b>5 – Expérimentation en serre sur 10 variétés anciennes de blé.....</b>	<b>65</b>
5.1 – Mise en place.....	65
5.2 – Evaluation du taux de mycorhization .....	67
5.3 – Evaluation de la biomasse.....	68
5.4 – Test de viabilité des graines .....	68
<b>6 – Expérimentation au champ de 4 variétés anciennes de blé .....</b>	<b>68</b>
6.1 – Mise en place.....	68
6.2 – Evaluation des rendements .....	70
6.2 – Test de viabilité des graines .....	70
7 – Test NPP (Nombre le Plus Probable) des sols.....	70
8 – Analyses statistiques .....	71
<b>Chapitre 2 : Création d'une base de données de la collection de blés de l'association</b>	
<b>Graines de Noé .....</b>	<b>72</b>
<b>1 – Introduction.....</b>	<b>73</b>
<b>2 – Importance de la base de données.....</b>	<b>73</b>
<b>3 – Récolte des données.....</b>	<b>74</b>
<b>4 – Description des rubriques .....</b>	<b>74</b>
4.1 – Interface Informations.....	74
4.2 – Interface Images .....	77
4.3 – Interface Documents .....	78
<b>5 – Fonctionnement.....</b>	<b>79</b>
<b>6 – Conclusion .....</b>	<b>80</b>
<b>Chapitre 3 : Evaluation des variétés de blé de la collection de Graines de Noé pour leur aptitude à former des mycorhizes au champ .....</b>	
<b>81</b>	
<b>1 – Introduction.....</b>	<b>82</b>
<b>2 – Evaluation de la mycorhization.....</b>	<b>82</b>
2.1 – Au Tallage.....	82
2.2 – A l'Epiaison .....	83
2.3 – A maturité des épis.....	83
<b>3 – Evolution de la symbiose durant le développement du blé.....</b>	<b>85</b>
<b>4- Conclusion .....</b>	<b>86</b>
<b>Chapitre 4 : Impact de la mycorhization sur le développement du blé et la qualité du grain .....</b>	
<b>87</b>	

<b>1- Introduction.....</b>	<b>88</b>
<b>2 – Mycorhization de 8 variétés anciennes et de 8 variétés récentes utilisées en culture biologique de blé et impact sur les biomasses et la qualité du grain en serre .....</b>	<b>90</b>
2.1 – Taux de mycorhization de 8 variétés anciennes sur le sol de Chazeuil.....	90
2.2 – Biomasse de 8 variétés anciennes sur le sol de Chazeuil .....	91
2.3 – Taux de mycorhization de 6 variétés anciennes sur le sol d'Epoisses.....	91
2.4 – Biomasse de 6 variétés anciennes sur le sol d'Epoisses .....	93
2.5 – Rendement en graines de 2 variétés anciennes de blé.....	95
2.6 – Taux de mycorhization de 8 variétés récentes sur le sol de Fenay .....	97
2.7 – Biomasse de 8 variétés récentes sur le sol de Fenay.....	98
2.8 – Taux de mycorhization de 6 variétés récentes sur le sol d'Epoisses.....	98
2.9 - Biomasse de 6 variétés récentes sur le sol d'Epoisses .....	99
2.10 – Rendement en graines de 2 variétés récentes de blé .....	101
2.11 – Test de viabilité des graines de blé.....	102
<b>3 – Mycorhization de 10 variétés anciennes de blé et impact sur la biomasse et la qualité du grain en serre .....</b>	<b>105</b>
3.1 – Taux de mycorhization de 10 variétés anciennes cultivées avec le sol d'Epoisses.....	105
3.2 – Evolution de la symbiose durant le développement des 10 variétés de blé cultivées avec le sol d'Epoisses.....	108
3.3 – Effet de la mycorhization sur la biomasse de 10 variétés anciennes cultivées avec le sol d'Epoisses.....	111
3.4 – Rendement et qualité des graines des 10 variétés anciennes de blé cultivées avec le sol d'Epoisses.....	114
<b>4 – Impact de la mycorhization sur les rendements et la qualité des grains de 4 variétés anciennes de blé cultivées au champ .....</b>	<b>118</b>
4.1 – Rendement en graines .....	118
4.2 – Viabilité des graines.....	119
4.3 – Taux de phosphore des graines.....	120
4.4 – Test de germination des graines .....	121
<b>5 – Conclusion .....</b>	<b>122</b>
<b>Discussion générale et perspective .....</b>	<b>124</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>131</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>152</b>
<b>Annexe 1: Liens Internet .....</b>	<b>153</b>
<b>Annexe 2: Valeurs numériques correspondantes de la figure 22 .....</b>	<b>154</b>



<b>Annexe 3: Tables d'Alexander (1965) pour la méthode de détermination du nombre le plus probable de propagules de champignons mycorhizogènes dans le sol.....</b>	<b>155</b>
<b>Annexe 4 : Tables de Cochran (1950) pour le calcul du facteur de confiance du nombre le plus probable de propagules de champignons mycorhizogènes.....</b>	<b>156</b>
<b>Annexe 5 : Article Scientifique .....</b>	<b>157</b>

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Généalogie du blé depuis les ancêtres sauvages diploïdes jusqu'aux blés modernes hexaploïdes.....	18
<b>Figure 2 :</b> Marché mondial du blé. ....	19
<b>Figure 3 :</b> Estimations mondiales (en million de tonnes).....	19
<b>Figure 4 :</b> Stades phénologiques de développement du blé .....	26
<b>Figure 5 :</b> Nécroses à la base des tiges du blé .....	28
<b>Figure 6 :</b> Symptômes rouille brune et rouille jaunes du blé. ....	29
<b>Figure 7 :</b> Symptômes de la septoriose du blé sur l'épis et les feuilles.....	30
<b>Figure 8 :</b> Symptômes de l'oïdium du blé sur l'épis et les feuilles. ....	31
<b>Figure 9 :</b> Symptômes de la carie du blé sur l'épis. ....	33
<b>Figure 10 :</b> Temps de travaux en blé.....	35
<b>Figure 11 :</b> Phylum des Glomérormycètes. ....	40
<b>Figure 12 :</b> Principales étapes du développement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules .....	42
<b>Figure 13 :</b> Interface 1 : Informations .....	53
<b>Figure 14 :</b> Interface 2 : Images .....	54
<b>Figure 15 :</b> Interface 3 : Documents.....	55

<b>Figure 16 :</b> liste des 53 variétés utilisées pour l'évaluation au champ de la mise en place de la symbiose avec la population indigène de champignons mycorhiziens.....	56
<b>Figure 17 :</b> Expérimentation au champ de 53 variétés de blé. ....	58
<b>Figure 18 :</b> Fragments de racines montées entre lame et lamelle .....	60
<b>Figure 19:</b> Notation de la colonisation mycorhizienne et de l'abondance en arbuscules (d'après Trouvelot <i>et al.</i> , 1986).....	60
<b>Figure 20:</b> Culture en serre de 8 variétés anciennes de blé et 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique.....	62
<b>Figure 21 :</b> Solution nutritive (gramme / litre). (Bertheau <i>et al.</i> , 1980).....	63
<b>Figure 22 :</b> Interprétation du test au Tétrazolium chez le blé (Grabe, D.F. 1970).....	65
<b>Figure 23 :</b> Critères de sélection de 10 variétés anciennes de blé en vue d'une culture pour évaluer leurs effets avec un inoculum commercial SYMBIVIT®.....	66
<b>Figure 24 :</b> Culture en serre de 10 variétés anciennes de blé.....	67
<b>Figure 25 :</b> Critères de sélection des 4 variétés anciennes de blé en vue d'une culture pour la validation au champ de l'effet mycorhizien.....	69
<b>Figure 26 :</b> Culture au champ des 4 variétés anciennes de blé.....	69
<b>Figure 27 :</b> Schéma de dilution successive d'analyse du pouvoir mycorhizogène.....	71
<b>Figure 28 :</b> Image de l'interface Informations de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant chaque rubrique numérotée de 1 à 22. ....	74
<b>Figure 29 :</b> Image de l'interface Images de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant chaque rubrique numérotée de 1 à 5. ....	77
<b>Figure 30 :</b> Image de l'interface Documents de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant la rubrique Documents.....	79

<b>Figure 31 :</b> Variation de l'aptitude à mycorhizer au champ de 53 variétés anciennes de blé selon le stade phénologique du développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis)..	84
<b>Figure 32 :</b> Evolution de la mycorhization au champ de trois variétés anciennes de blé à trois stades phénologiques de développement (Tallage, Epiaison et Maturité des épis). .....	85
<b>Figure 33 :</b> Tableau synthétique des différentes expérimentations et variétés utilisés. ....	89
<b>Figure 34 :</b> Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 8 variétés anciennes de blés après 6 semaines de cultures sur le sol d'origine.....	90
<b>Figure 35 :</b> Biomasses fraîches des huit variétés anciennes de blés après 6 semaines de culture en serre sur sol d'origine. ....	91
<b>Figure 36 :</b> Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 6 variétés anciennes de blé après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses.....	92
<b>Figure 37 :</b> Biomasses fraîches (a) et sèches (b) de six variétés anciennes de blés après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses.....	95
<b>Figure 38 :</b> Nombre et poids des graines par plante de deux variétés anciennes de blés (Rouge du Roc, et Rouge de Bordeaux).....	96
<b>Figure 39 :</b> Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 8 variétés récentes de blés cultivées en culture biologique après 6 semaines de culture sur le sol d'origine.....	97
<b>Figure 40 :</b> Biomasses fraîches des huit variétés récentes de blés cultivées en agriculture biologique après 6 semaines de culture en serre sur sol d'origine. ....	98
<b>Figure 41 :</b> Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 6 variétés récentes de blé après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses. ....	99
<b>Figure 42 :</b> Biomasses fraîches de six variétés récentes de blé utilisées en agriculture biologique de blés après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses.. ....	100

<b>Figure 43:</b> Nombre et poids des graines par plante de deux variétés récentes de blé utilisées en culture biologique (R25 et R59).....	101
<b>Figure 44 :</b> Pourcentage de viabilité des graines de deux variétés anciennes de blé (Rouge du Roc et Rouge de Bordeaux).....	103
<b>Figure 45 :</b> Pourcentage de viabilité des graines de deux variétés anciennes de blé (R25 et R59).....	104
<b>Figure 46 :</b> Mycorhization de dix variétés anciennes de blé en serre .....	108
<b>Figure 47 :</b> Evolution de la Mycorhization de dix variétés anciennes de blé en serre .....	111
<b>Figure 48 :</b> Biomasse fraîche de dix variétés anciennes de blé en serre : partie aérienne (PA) et partie racinaire (PR) à trois stades phénologiques de développement .....	114
<b>Figure 49 :</b> Rendement en graines de dix variétés anciennes de blé en serre : Nombre de graines par plante (A), Poids des graines (B) et le poids par graines (C) .....	117
<b>Figure 50 :</b> Influence de l'apport d'un inoculum exogène au champ sur le rendement en poids de graines par parcelle des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc .....	118
<b>Figure 51 :</b> Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur la viabilité (qualité) des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc .....	120
<b>Figure 52 :</b> Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le taux de phosphore des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc .....	121
<b>Figure 53 :</b> Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le pouvoir de germination des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc .....	122

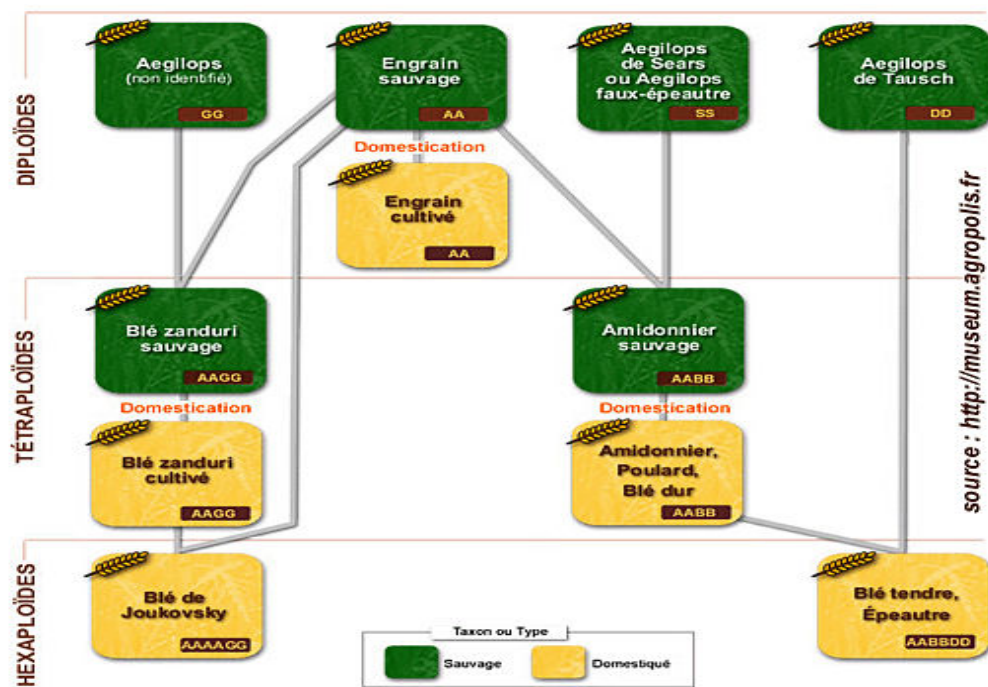
# **Introduction générale**

# Le blé, son histoire et son importance pour l'humanité

Le blé est un terme communément utilisé pour désigner plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum* et appartenant à la famille des Graminées ou Poaceae. Le terme blé désigne également le « grain » (caryopse) produit par ces plantes annuelles. Il y a environ 10 000 ans, à la fin de la dernière glaciation, des blés 'proches' de ceux que nous cultivons aujourd'hui poussaient naturellement sur de vastes surfaces au Moyen-Orient. Un de leur ancêtre est une céréale sauvage diploïde ( $2n=14$ ) *Aegilops* de génotype GG très rustique mais peu productive et qu'on retrouve encore aujourd'hui au Moyen-Orient. Entre -8900 et -7500, la culture du blé connaît un intérêt plus prononcé pour l'Homme qui décide de la domestiquer ; cette plante est désormais hexaploïde à 42 chromosomes, après avoir été tétraploïdes ( $2n=28$ ) (Fig.1). Ce résultat est le fruit d'un long processus de croisements naturels mais aussi un travail de sélection de la part des agriculteurs et des producteurs de semences. On distingue un très grand nombre de variétés de blé réparties en deux grands ensembles :

**Les blés tendres** (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) : reconnaissable par des grains arrondis, les enveloppes sont épaisses, sans transparence et se prêtent particulièrement bien à la mouture.

**Les blés durs** (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*) : Cette catégorie de blé est cultivée dans les pays de climat chaud et sec. Elle s'identifie par ses graines de blé dures, allongées, souvent même pointues, et avec des enveloppes assez minces et légèrement translucides.



**Figure 1** : Généalogie du blé depuis les ancêtres sauvages diploïdes jusqu'aux blés modernes hexaploïdes  
(Source : <http://vulgariz.com/medecine-sante/genetique/domestication-du-ble-levolution-des-genes-fait-bien-les-choses/>)

Selon les statistiques mondiales de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'Agriculture (FAO) la production mondiale de blé en 2012 est de 702,4 millions de tonnes c'est-à-dire un peu plus de 100 kg par habitant. Sa production est de 660,3 millions de tonnes pour la période 2012/2013. Les prévisions de cette production sont de 716,9 millions de tonnes en 2013/2014 (Fig.2). Ce qui revoit à la hausse la disponibilité du blé depuis la saison 2010/2011. Le blé reste la deuxième plante la plus cultivée dans le monde derrière le maïs, il représente 40% de la production mondiale des céréales (Fig.3). Ces chiffres démontrent que le blé est une plante très cultivée aujourd'hui sur la majeure partie des terres du globe, d'où son importance dans l'alimentation



Marché mondial du blé						
	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14 estimation	2014/15 prévision	
					précédente (05 juin 2014)	dernière (03 juill 2014)
	(..... millions de tonnes .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent .....) (..... pour cent ..%)					
<b>Production<sup>1</sup></b>	653.8	702.5	660.3	716.9	702.7	<b>707.2</b>
<b>Disponibilités<sup>2</sup></b>	844.0	887.2	840.9	874.0	879.5	<b>881.1</b>
<b>Utilisation</b>	658.3	698.6	685.5	687.1	698.6	<b>699.2</b>
<b>Commerce<sup>3</sup></b>	128.0	147.5	140.9	154.5	149.0	<b>149.0</b>
<b>Stocks de clôture<sup>4</sup></b>	184.7	180.5	157.1	173.9	181.7	<b>180.0</b>
<b>Rapport stocks mondiaux- utilisation</b>	26.4	26.3	22.9	24.9	25.5	<b>25.3</b>
<b>Rapport stocks des princi- aux exportateurs- utiliza- tion totale<sup>5</sup></b>	20.7	17.9	14.1	14.3	14.9	<b>14.4</b>

**Figure 2 :** Marché mondial du blé. (Source : <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr>)

Estimations mondiales (en Mt)			
Prévisions	2012/13	2013/14	
		30/08	26/09
<b>Blé</b>			
Production	655	691	693
Échanges	141	141	141
Consommation	673	688	687
Stocks de report	175	176	180
Variation année/n-1	-19		+5
<b>Maïs</b>			
Production	863	945	943
Échanges	96	100	100
Consommation	872	917	917
Stocks de report	121	150	148
Variation année/n-1	-9		+26

source : C/C

**Figure 3 :** Estimations mondiales (en million de tonnes). (Source : Conseil International des Céréales)

# La culture du blé

## Généralités

En fonction des systèmes de cultures, on distingue divers types de blé :

- le blé d'hiver semé à l'automne, est caractéristique des régions méditerranéennes et tempérées ;

- le blé de printemps semé au printemps est cultivé dans les pays à hiver plus rude. La principale différence avec le blé d'hiver est que le blé de printemps supporte assez difficilement les températures basses et surtout qu'il n'a pas besoin de vernaliser pour épier. C'est grâce à lui que la Sibérie occidentale et le Canada sont devenus de gros producteurs.

### Le semis :

La mise en place d'une culture de blé est très importante puisqu'elle conditionne le développement et la croissance des plantes. Le succès de cette installation dépend : du choix de la variété adaptée au climat et au sol de la zone ; de la date du semis ; de la densité de semis ; de la profondeur de semis.

### Le choix de la variété :

L'agriculteur cultive généralement plusieurs variétés de blé. Cette diversité lui permet d'étaler son travail et de limiter les risques liés au climat et aux différents ennemis des cultures (ravageurs et maladies). Les critères de choix possible sont donc des critères techniques :

- le rendement : ce critère est moins important pour les parcelles à faible potentiel ;
- la valeur boulangère : les agriculteurs ont parfois des contrats imposant une qualité technologique stricte ;
- la précocité : en fonction du climat local et du calendrier des travaux ;

- la résistance de la culture au froid, aux maladies, à la verse et à la germination sur pied ;

### **La date de semis :**

Les dates de semis dépendent de plusieurs facteurs : du précédent cultural ; de la variété ; des conditions climatiques ; de l'état du sol ; des stratégies de contournement de pathologie ou d'adventices et du système de production ; disponibilité de l'agriculteur...

Dans cette optique, les blés d'hiver ont besoin de périodes de froid assez prolongées pour acquérir l'aptitude à fleurir : c'est le phénomène de vernalisation. Il faut donc procéder à un semis précoce avant l'hiver. Il est également à noter que la date de semis est propre à chaque région doit être respectée sérieusement pour éviter les méfaits climatiques. Il serait propice de commencer dès la fin d'Octobre avec un écartement entre les lignes de 15 à 25 cm et une profondeur de semis de 2,5 à 3 cm. L'influence du climat est un facteur déterminant à certaines périodes de la vie du blé.

La température est l'un des facteurs importants pour la croissance et l'activité végétative.

La germination commence dès que la température dépasse 0°C, avec une température optimale de croissance située entre 15 à 22° C. Les exigences globales en température sont assez importantes et varient entre 1800 et 2400 °C selon les variétés. De même la température agit sur la vitesse de croissance, elle ne modifie pas les potentialités génétiques de croissance ; c'est la somme de température qui agit dans l'expression de ces potentialités. Chaque stade de développement du blé nécessite des températures particulières. (BELAID, 1986). De plus, l'eau est un facteur limitant de la croissance du blé. Ce dernier exige l'humidité permanente durant tout le cycle de développement. Les besoins en eau sont estimés à environ 800 mm (SOLTNER, 1988). En zone aride, les besoins sont plus élevés au vu des conditions climatiques défavorables. C'est de la phase épi 1 Cm à la floraison que les besoins en eau sont les plus importants. La période critique en eau se situe 20 jours avant l'épiaison jusqu'à 30 à 35 jours après la floraison (LOUE, 1982). En plus de ces facteurs, la lumière est le facteur qui agit directement sur le bon fonctionnement de la photosynthèse et le comportement du blé. Un bon tallage est garanti, si le blé est placé dans les conditions optimales d'éclairement

(SOLTNER, 1988). Les sols qui conviennent le mieux au blé sont des sols drainés et profonds. Des sols limoneux, argilo-calcaires, argilo- siliceux et avec des éléments fins. Du point de vu caractéristiques climatiques, les blés durs sont sensibles au calcaire et à la salinité ; un pH de 6,5 à 7,5 semble indiqué puisqu'il favorise l'assimilation de l'azote (SOLTNER, 1988).

### **La densité de semis :**

C'est le nombre de grains semés par mètre carré, il détermine le nombre de plantes par mètre carré. C'est-à-dire le peuplement réalisé. Celui-ci varie selon : le type de semence (classique ou hybride), le climat, le type de sol, la faculté germinative, les conditions de semis, la date de semis et les pertes à la levée et durant l'hiver. La densité de semis variée entre 200 à 225 Kg /ha en fonction des paramètres climatiques, la grosseur des grains, la faculté germinative et la fertilité du sol.

### **La levée :**

Au semis, la semence de blé est sèche. Cette phase peut être accomplie dès que la semence est capable de germer et que le sol peut lui fournir l'humidité, la chaleur et l'oxygène nécessaire. La teneur minimale en eau qui permet la germination est de l'ordre de 35 à 40%. Lorsque la graine a absorbé de 20 à 25% de son poids d'eau. La température optimale de la germination se situe entre 5 à 22°C, avec un minimum de 0°C et un maximum de 35° C. Ces condition réunis, il sort une radicule (première petite racine) puis un coléoptile. Une première feuille paraît au sommet du coléoptile (Fig.4). La germination est uniquement déterminée par le cumul journalier de la température positive. Il faut en moyenne 30 degrés jour (ou Dj) pour la germination, soit trois jours à 10 °C ou 10 jours à 3 °C, et environ 150 Dj pour la levée. L'axe portant le bourgeon terminal se développe en un rhizome (tige souterraine) dont la croissance s'arrête à 2 cm en dessous de la surface du sol. Il apparaît un renflement dans la partie supérieure du rhizome qui grossit et forme le plateau de tallage. La levée commence quand la plantule sort de terre et que la première feuille pointe au grand jour son limbe. Un désherbage peut être pratiqué en pré-semis (juste avant le semis) ou en post-semis pré-levée (entre le semis et la levée). Le rythme d'émission des feuilles est réglé par des facteurs externes comme la durée du jour et le rayonnement au moment de la levée qui est fortement

dépendant de la variété considérée. On exprime le nombre de feuilles en fonction des cumuls de températures depuis le semis (voir aussi phyllotherme). Le phyllotherme est la durée exprimée en somme de température séparant l'apparition de deux feuilles successives. Il est estimé à 100 Dj et varie entre 80 Dj (semis tardif) à 110 Dj (semis précoce). Le blé a besoin d'une période de froid d'environ 100 jours, ce qui explique le fait qu'il n'y a pas de développement de la culture du blé dans les régions équatoriales. Le blé mûrit plus vite à une température de 30 °C et plus. En conséquence, ses épis portent moins de graines et ces dernières sont plus petites. D'autre part, un réchauffement local de 2 °C diminuerait la période de croissance de 9 jours et réduirait les rendements de 20 %. Cette diminution de la récolte est particulièrement inquiétante pour l'Inde, pays tropical et les Etats-Unis 2<sup>ème</sup> producteur mondial derrière la Chine. La période « quelques feuilles » peut être le moment de désherber et parfois de traiter contre les insectes (larves de taupins, tipules) en agriculture conventionnelle.

### **Le stade « 3 feuilles » :**

Le stade « 3 feuilles » est une phase repère pour le développement du blé. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses ou talles. Chaque talle primaire donne des talles secondaires. Apparaissent alors, à partir de la base du plateau de tallage, des racines secondaires ou adventives, qui seront à l'origine de l'augmentation du nombre d'épis (Fig.4).

### **Le Tallage :**

Le tallage commence à la fin de l'hiver et se poursuit jusqu'au début du printemps. Selon SOLTNER, (1988), C'est un mode de développement propre aux graminées, caractérisé par la formation du plateau du tallage, l'émission de talles et la sortie de nouvelles racines. La durée de cette période varie de 31 à 89 jours pour des températures moyennes de 09 à 32° C respectivement (MEKLICHE, 1983). Il est caractérisé par la formation de talles et l'initiation florale qui se traduit par l'apparition de la future ébauche de l'épi. Les autres feuilles poussent elles aussi leurs talles vertes. Au moment du plein tallage, la plante est étalée ou a un port retombant. À l'intérieur de la tige, on peut trouver ce qu'on appelle la pointe de croissance. Elle commence à ressembler à un épi de blé. Initialement, la pointe est sous terre, protégée

contre le gel. Au fur et à mesure de la reprise de la végétation, la pointe de croissance va s'élever dans la tige (Fig.4). Tout déficit hydrique durant cette période se traduit par une diminution du nombre de grains par épi (MARTIN- PREVEL, 1984).

### **La montaison :**

La montaison se produit de fin mars à fin avril en France. Elle débute lorsque les entrenœuds de la tige principale se détachent du plateau du tallage, ce qui correspond à la formation du jeune épi à l'intérieur de la tige (BELAID, 1987) ; on assiste à l'allongement des entrenœuds. Le stade « épi à 1 cm » du plateau de tallage est caractérisé par une croissance active des talles. COUVREUR (1981), considère que ce stade est atteint quand la durée du jour est au moins de 11 heures et lorsque la culture a reçue au moins 600° C. (base 0° C depuis la levée). Le plant de blé a besoin, durant cette phase, d'un important apport d'azote. A la fin de la montaison apparaît la F1. Ce terme désigne la dernière feuille sortie. En semis dense, la F1 est essentielle car elle va à elle seule contribuer à 75 % du rendement en grains. Juste avant la maturité, les plants trop densément semés se concurrençant entre eux, la F1 est d'ailleurs généralement la seule feuille pas impliquée dans la concurrence. Lorsque cette feuille est touchée, le poids de la récolte en grain devient vite désastreux. En effet, avec des plants serrés le poids unitaire des grains est déjà faible. De surcroît, cette faible distance entre chaque plant facilite la propagation des maladies. Au moindre stress, la céréale risque alors de donner des grains de très faible poids. On prévient dans l'immédiat cette baisse du rendement avec l'épandage préalable d'engrais et de pesticides : s'installe ensuite un phénomène de dépendance croissante à ces produits (Fig.4).

### **L'épiaison :**

L'épiaison se produit en mai ou juin en France, lorsque la gaine éclatée laisse entrevoir l'épi qui s'en dégage peu à peu (on parle de gonflement). Pour les espèces barbuées comme le blé dur, c'est le moment où apparaissent les extrémités des barbes à la base de la ligule de la dernière feuille. Avant l'apparition de l'épi, on peut voir un gonflement de la gaine. À ce stade, le nombre total d'épis est défini, de même que le nombre total de fleurs par épi. Chaque fleur peut potentiellement donner un grain (par exemple 25 grains par épi), mais il est possible

que certaines fleurs ne donnent pas de grain, en raison de déficit de fécondation par exemple (Fig.4).

### **La floraison :**

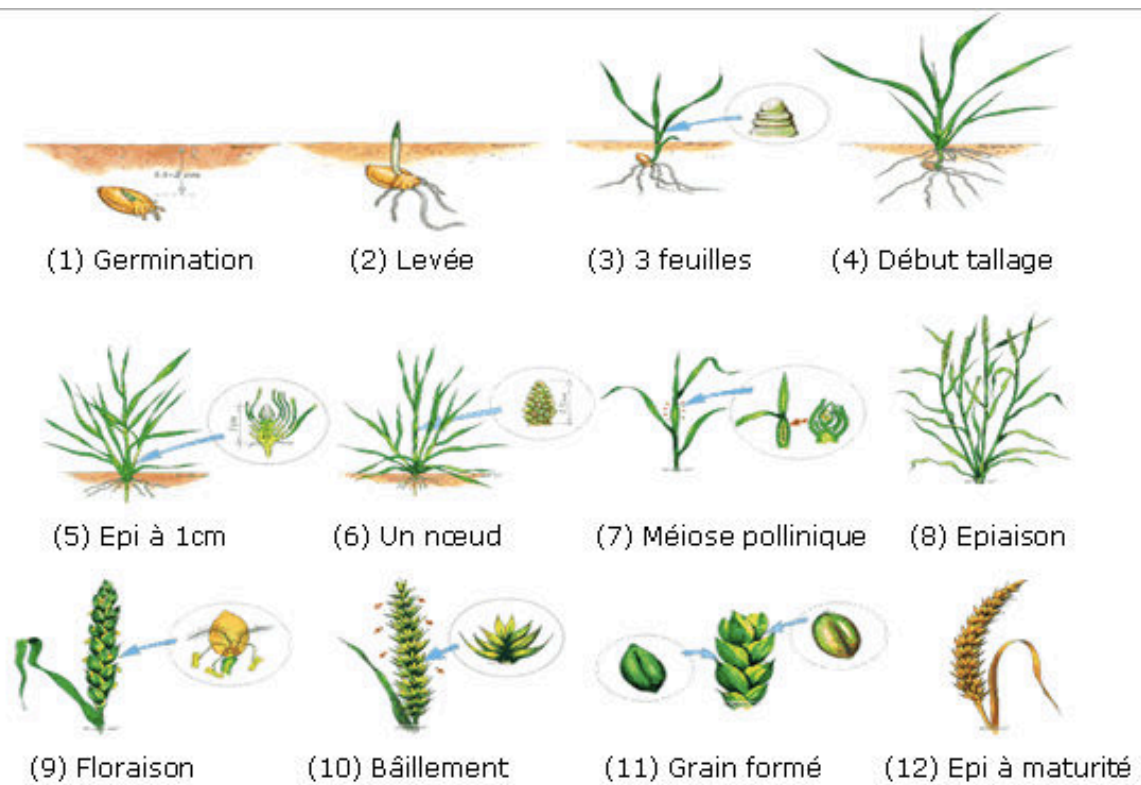
La floraison s'observe à partir du moment où quelques étamines sont visibles dans le tiers moyen de l'épi, en dehors des glumelles. Quand les anthères apparaissent, elles sont jaunes ; après exposition au soleil, elles deviennent blanches. Le grain de pollen des blés est monoporé et sa dispersion est relativement faible. À la fin de la floraison, quelques étamines séchées subsistent sur l'épi. Environ quinze jours après la floraison, le blé commence à changer de couleur : du vert il passe au jaune, doré, bronze et rouge (Fig.4).

### **La formation du grain :**

Le cycle s'achève par la maturation qui dure en moyenne 45 jours. Les grains vont progressivement se remplir et passer par différents stades tels que le stade laiteux, puis pâteux, au cours desquels la teneur en amidon augmente et le taux d'humidité diminue. Durant cette phase, les réserves migrent depuis les parties vertes jusqu'aux grains. Quand le blé est mûr, le végétal est sec et les graines des épis sont chargées de réserves. La formation du grain se fait quand les grains du tiers moyen de l'épi parviennent à la moitié de leur développement. Les grains se développent en deux stades :

- le stade laiteux où le grain vert clair, d'un contenu laiteux, atteint sa dimension définitive ;
- le stade pâteux où le grain, d'un vert jaune, s'écrase facilement.

Les glumes et les glumelles sont jaunes striées de vert, les feuilles sèches et les nœuds de la tige encore verts. Puis le grain mûrit : brillant, durci, il prend une couleur jaune. À maturité complète, le grain a la couleur typique de sa variété et la plante est sèche. À sur-maturité, le grain est mat et tombe tout seul de l'épi. Dans les conditions favorables, une seule semence peut produire une centaine de nouveaux grains voir plus selon la densité des plantes (Fig.4).



**Figure 4 :** Stades phénologiques de développement du blé (Source : blé hybride HYN0 onglet "le blé en général")

## Les maladies du blé

Au cours de sa croissance, le blé peut être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses. Il peut subir la pression de plantes adventices : graminées, comme le vulpin (*Alopercurus*), le ray-grass (*Lolium*), le Paturin (*Poa*),..., ou des dicotylédones comme le coquelicot (*Papaver rhoeas L.*), la stellaire (*Stellaria*),..., il peut être victime d'attaques dues à des ravageurs, comme les limaces, les nématodes, les cécidomyies (*Sitodisplosis mosellana* Gehin)... ; ou encore être touché par des maladies fongiques. Celles-ci sont nombreuses et variées. Les symptômes de ces maladies peuvent apparaître sur la tiges de blé, comme dans le cas du piétin-verse (*Pseudocerospora herpotrichoides* (fron) Dieghton), du piétin-échaudage (*Gaeumannomyces graminis var. tritici* J. Walker) et du rhizoctone (*Rhizoctonia*



*cerealis* E.P. Heoven). Ils peuvent apparaître sur les feuilles, comme pour les rouilles, jaune (*Puccinia striiformis* Erikss) ou brune (*Puccinia recondita* Roberge ex Desm), la septoriose des feuilles (*Septoria tritici* Desm) et l'helminthosporiose (*Helminthosporium tritici-repentis* Died.) ; ils peuvent aussi apparaître sur les épis, comme dans le cas du charbon couvert (*Tilletia laevis* J.G. Kühn), du charbon nu (*Ustilago nuda* (C.N. Jensen) Rostr.) et de la carie (*Tilletia caries* (DC.) Tul. & C. Tul.), ou encore sur plusieurs parties de la plante, comme dans le cas de la septoriose des épis (*Septoria nodorum* (Berk.) Berk.), de l'oïdium (*Erysiphe graminis* DC.) et de la fusariose qui attaque à la fois les semences, les tiges et les épis de blé.

### **Le piétin verse :**

Les premiers symptômes peuvent être confondus avec ceux du rhizoctone ocellé et des infections dues à *Fusarium sp.* Souvent, le seul symptôme visible est une tache brune sur la gaine des feuilles, à la base de la tige (Fig 5). Dans les cultures à semis précoce, les lésions du piétin-verse peuvent pénétrer une ou deux gaines de feuilles, ce qui facilite leur identification. Les lésions causées par *Fusarium sp.* et le piétin-verse sont généralement confinées à la gaine supérieure de la feuille. Plus tard dans la saison, les symptômes du piétin-verse deviennent plus distincts et se présentent sous la forme d'une lésion en forme d'œil entourée d'une bordure foncée, généralement en-dessous du premier nœud. Plus tard encore, cette bordure est souvent foncée et diffuse, avec une « pupille » noire centrale parfois visible. Lors des épidémies sévères, on observe souvent des épis argentés dispersés dans la parcelle qui, plus tard dans la saison, peuvent être colonisés par des fumagines. Cette maladie du blé tend à être plus sévère lorsque les plants souffrent également de piétin-échaudage.

([http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Pietin\\_verse.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Pietin_verse.html))



**Figure 5 :** Nécroses à la base des tiges du blé (Source : Bayer-Agri.fr)

### **La rouille brune et la rouille jaune :**

Les symptômes de la rouille brune se manifestent souvent en automne sur les cultures à semis précoce, sous la forme de pustules de couleur orange à brune. Lors des infections de début d'automne, les pustules individuelles peuvent être confondues avec celles de la rouille jaune, de par leur couleur orange à brune et leur diamètre compris entre 0,5 et 1,0 mm environ. Plus tard dans la saison, le diagnostic est facilité car les pustules brunes tendent à être disséminées de façon aléatoire par opposition aux symptômes de la rouille jaune (*Puccinia striiformis*), qui se présentent davantage sous forme de rayures. Les symptômes apparaissent essentiellement sur les feuilles. Lors des attaques sévères, des pustules peuvent également être observées sur la tige et les glumes. L'infection des glumes par la rouille brune peut entraîner une diminution de poids spécifique. Lorsque les feuilles entrent en sénescence, un « îlot vert » se développe autour de chaque pustule. Des téleutospores sont parfois produites vers la fin de la saison. (Fig 6) ([http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Rouille\\_brune.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Rouille_brune.html))



**Figure 6 :** Symptômes rouille brune et rouille jaunes du blé. (Source : BASF)

### **La septoriose du blé :**

Elle peut se propager par les graines et contaminer les semis, et se manifester par la présence de zones vert foncé mouillées sur le coléoptile, qui devient nécrosé. Une vrille, une distorsion et une verse des jeunes semis peuvent également être observées. Sur les tissus foliaires matures, le premier symptôme de l'infection est l'apparition de petites lésions nécrotiques. Par la suite, celles-ci prennent l'apparence de lésions ovales de couleur brune, entourées d'un halo chlorotique qui, souvent, conflue pour produire de vastes zones de tissus morts, secs et parfois fissurés. Des pycnides se forment dans les tissus contaminés, mais elles sont difficiles à déceler sur la parcelle, y compris à la loupe, car elles sont de couleur brun-rosée. La meilleure façon de les détecter est d'observer les lésions à la loupe, par transparence. *S. nodorum* peut également contaminer les épis, notamment les épis de blé. Des taches brun foncé, similaires à des brûlures, se développent sur les glumes, qui prennent ensuite une couleur brune pourprée. Les symptômes sont plus faciles à détecter sur les épis verts. Bien que *S. nodorum* soit davantage associé à la présence de taches nécrotiques sur les feuilles et les glumes, le champignon peut provoquer une fonte des semis post-levée sur les sols humides et frais. *S. nodorum* survit sous forme de mycélium dormant, ainsi que sous forme de pycnides et de pseudothèces sur les grains, le chaume, les résidus, les cultures à semis automnal et les repousses de céréales. (Fig 7)

En l'absence de résidus de culture, les premières infections survenant en automne ou au printemps peuvent entraîner la libération d'ascospores aériennes des pseudothèces, sur de longues distances. A mesure que la température et le taux d'humidité augmentent, des

pycnidiospores sont produites dans les pycnides, et sont dispersées par les éclaboussures sur le plant infecté, puis de plant à plant. Les températures oscillant entre 20 et 27°C et l'humidité relative de 100 % sont optimales pour la sporulation et la germination, et une période de précipitations est essentielle pour la propagation des spores. Le cycle de la maladie peut s'achever en 10-14 jours dans de telles conditions. Les spores produites à partir des pseudothèces et des pycnides, qui se développent sur la feuille paniculaire et l'épi à la fin de la saison, peuvent provoquer la contamination des cultures à semis automnal précoce et des repousses de céréales, et peuvent également rester à l'état de dormance pendant l'hiver. La septoriose peut également infecter les semences. À l'instar de *Fusarium spp.*, *S. nodorum* peut survivre entre deux cultures, sur les semences ou les résidus de culture. Si l'inoculum est véhiculé par les débris il joue généralement un rôle majeur lors des phases ultérieures à cette maladie du blé (septoriose de l'épi) ; le champignon véhiculé sur les semences est plus susceptible de provoquer une fonte des semis due à la septoriose.

([http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Septoriose\\_Tache\\_foliaire.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Septoriose_Tache_foliaire.html))



**Figure 7 :** Symptômes de la septoriose du blé sur l'épis et les feuilles. (Source : Syngenta)

### **L'oïdium du blé :**

Les symptômes de l'oïdium peuvent être observés sur les feuilles, les tiges et les épis, mais ce sont les feuilles qui sont les plus souvent attaquées. Généralement, des pustules blanches se développent, et produisent une masse de spores ayant une apparence poudreuse. Au fur et à mesure de leur croissance, les pustules d'oïdium foncent et prennent une couleur grise ou brune. À terme, des organes contenant des spores noires (les cléistothèces) sont retrouvés incorporés dans les pustules de l'oïdium, généralement vers la fin de la saison. (Fig 8) ([http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Oidium\\_1.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Oidium_1.html))



**Figure 8 :** Symptômes de l'oïdium du blé sur l'épis et les feuilles. (Source : BASF)

### **La carie :**

Les spores sont présentes dans les poils de la brosse (système respiratoire du grain) et dans le sillon. Elles germent et pénètrent dans le coléoptile du blé avant la levée. C'est à partir du stade deux feuilles que le blé devient résistant. À ce stade, le mycélium ne peut plus pénétrer dans la plantule dont les parois sont trop épaisses. Les premiers symptômes apparaissent à la montaison. Les plantes affectées sont de couleur bleutée et peuvent être plus

courtes. La maladie se manifeste plus nettement après l'épiaison. Les tiges et l'épi ont toujours une couleur verte, bleuâtre. Les glumes s'écartent pour laisser apparaître des grains de forme arrondie et de couleur vert olive. À maturité, ces grains brunissent et donnent à l'épi un aspect ébouriffé. Un grain carié peut contenir jusqu'à neuf millions de spores alors que seulement 20 à 40 spores suffisent à la contamination. Ces spores peuvent se conserver jusqu'à 5 ans dans un sol. À noter que ce champignon a deux modes de contamination : par la semence et par le sol (Fig 9).

L'agent principal de la fusariose du blé est *Fusarium graminearum* Schwabe, mais environ une vingtaine d'espèces appartenant au genre *Mycrodochium* peuvent être impliquées dans le complexe provoquant cette maladie (Arseniuk *et al.*, 1999). Les principales espèces responsables de la maladie en Europe, outre *F. graminearum*, sont *F. culmorum* (Wm.G. Sm) Sacc., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. poae* (Peck) Wollenw. et *M. nivale* (Fr.) Samuels & I.C.Hallet (Bottalico and Perrone, 2002 ; Ioos *et al.*, 2004 ; Parry *et al.*, 1995). La fusariose a été décrite pour la première fois en Angleterre en 1884, mais des récentes épidémies ont été décrites en Asie, en Amérique et en Europe (Goswami & Kistler, 2004). Les conséquences économiques dues à cette maladie sont considérables. Par exemple, les pertes causées par la fusariose dans les états du nord et du centre des états unis entre 1998 et 2000 ont été évaluées à 2,7 milliards de dollars (Nganje *et al.*, 2002). Le développement de la maladie peut occasionner des pertes de rendement notamment par une diminution du poids de 1000 grains, par une réduction du nombre de grains par épis, mais aussi par une diminution du poids des épis (Arseniuk *et al.*, 1993). De plus la qualité des grains affectés par la fusariose peut être altérée (Pirgozliev *et al.*, 2003).



**Figure 9 :** Symptômes de la carie du blé sur l'épis. (Source : Bayer-Agri.fr)

### **Méthode conventionnelle.**

Ce type de culture permet d'envisager à priori un programme de nutrition des plantes à base d'engrais chimiques de synthèse, de traitement insecticides, herbicides et en fongicides ; le coût et le nombre de traitement correspondant à une campagne de production est fonction de la pression des maladies et des conditions météorologiques. Ainsi, trois périodes de traitement se dégagent pour le blé :

- Epi 1cm à 1 nœud pour lutter contre le piétin verse ; Septoriose Rouille...
- De 1 nœud à dernière feuille étalée pour lutter contre les maladies du feuillage (septoriose et rouille brune en tête) ;
- A la floraison pour lutter contre la fusariose.

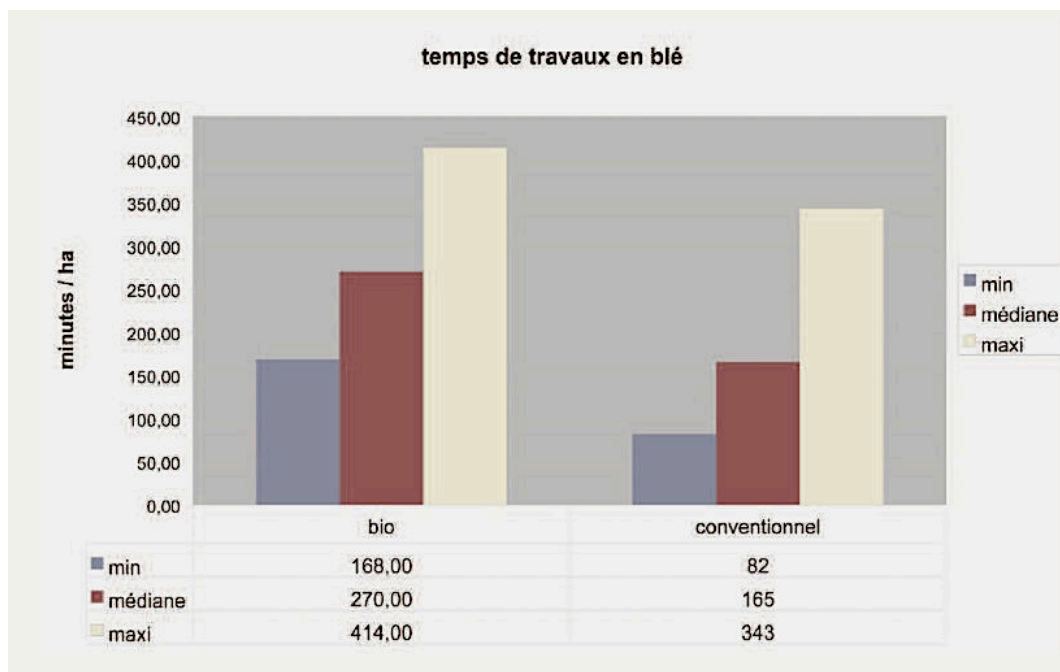
En choisissant des variétés moins sensibles à ces maladies, les traitements fongicides peuvent ainsi être limités. Ainsi une variété peu sensible à la fusariose (et mise dans des conditions peu favorables à la maladie) permettra de se passer du troisième traitement alors qu'une variété sensible nécessitera souvent un traitement à la floraison. Le coût des programmes varie ainsi de 60 à 130 €/ha et résulte très souvent du choix de la variété. A titre

d'exemple, si l'on choisit une variété sensible à la fusariose, il faut éviter d'y associer des techniques culturales simplifiées et un précédent maïs ou sorgho. Dans le cadre d'itinéraires culturaux à bas niveau d'intrants, le choix pourra se porter sur les variétés ayant des notes de résistances supérieures à 6 (Notes du Comité Technique Permanent de la Sélection « CTPS ») tout en présentant un niveau de productivité acceptable.

## **Production biologique.**

La culture du blé en agriculture biologique peut se faire avec ou sans labour. On peut prendre pour exemple la préparation de parcelles en vue d'un système de production biologique suivant : après un précédent cultural récolté tôt (pois, pomme de terre...) on déchaume et sème un engrais vert (captation d'azote) ; avant le broyage de l'engrais vert on apporte environ 10t/ha de compost à la fin septembre ; après broyage de l'engrais vert, on l'enfouit grâce à un outil type "cover crop" ou un déchaumeur à dents à faible profondeur ( 5-8 cm). 15 jours plus tard on réalise un second passage de déchaumeur mais plus profond (15-20 cm), ensuite grâce à un combiné outils de travail du sol (type herse rotative) suivi d'un semoir on sème les graines. 4-5 jours après le semis, avant la levée on effectue un passage de herse étrille ou de houe rotative ; ce passage, si nécessaire, pourra être effectué de nouveau au printemps. Suivant le précédent cultural on peut espérer un rendement de 30q (précédent céréale) à 65q (précédent légumineuse) par hectare. Cependant ce type production nécessite plus de temps de travail que la production conventionnelle. (Fig.10)





**Figure 10 :** Temps de travaux en blé. (Source : Agrobio Poitou-Charentes <http://www.penser-bio.fr/>)

### **Place dans la rotation :**

Exigeant en azote, le blé sera positionné de préférence derrière une culture qui laisse un reliquat azoté dans le sol comme la luzerne, le trèfle, le pois protéagineux ou la féverole. Le blé s'adapte à quasiment tous les types de sol, mais exprimera pleinement son potentiel dans des sols à bonne réserve utile et avec des teneurs élevées en matière organique.

### **Préparation du sol :**

Des faux semis pas trop profonds permettent de positionner le blé sur une parcelle propre. Par la suite, le travail du sol aura comme objectif principal de favoriser une levée rapide et un bon enracinement.

### **Choix variétal :**

Le choix variétal est fondamental pour atteindre les attentes qualitatives requises par la meunerie, notamment un taux de protéines supérieur à 10,5%. Productivité, rusticité, pouvoir

couvrant, faculté de taller et hauteur de paille, seront également des critères de choix déterminants pour mener à bien la culture de blé.

### **Semis :**

Des semis tardifs qui favorisent le développement de la culture en l'absence d'adventices seront réservés aux sols légers et portants, qui se réchauffent rapidement au printemps pour ne pas pénaliser l'installation de la culture et le tallage. Dans tous les autres cas, en France, un semis entre le 15 et le 25 octobre sera privilégié. Les sols qui se réchauffent lentement en sortie d'hiver ne minéralisent pas suffisamment l'azote pour satisfaire les besoins du blé en reprise de végétation. Ce déficit azoté se traduit par des coefficients de tallage faibles, inférieurs à 2 (Contrat Territorial d'Exploitation (CTE)) et souvent proches de 1,5. Pour avoir un nombre d'épis suffisant il faut donc viser des densités de semis élevées de l'ordre de 380 à 400 grains/m<sup>2</sup>, majorées de 50 grains pour des semis postérieurs au 1er novembre.

### **Fertilisation :**

Le blé, culture exigeante, doit être positionné derrière une légumineuse pour bénéficier de forts reliquats azotés (plus de 200 kg d'azote/ha libérés en cumulé après retournement d'une luzerne de deux ans). Fumiers et composts jeunes peuvent être apportés à l'automne. Au printemps il faudra privilégier des produits à minéralisation rapide comme le lisier ou des produits commerciaux tels que les fientes de poule, le guano ou les farines de plumes... Les apports de printemps avec des produits chers doivent être pilotés (date/dose) en fonction des reliquats azotés présents à la sortie hiver et de l'état des cultures, sous peine de n'être pas économiquement intéressants.

### **Désherbage :**

Comme pour toutes cultures, c'est avant tout des méthodes préventives qui maintiennent la propreté des parcelles : rotations longues et diversifiées, travail du sol adapté, choix des variétés et gestion des intercultures. Si besoin, il est possible d'intervenir avec la herse étrille ou la houe rotative, dès le stade 2 - 3 feuilles du blé, avec des réglages souples

pour ne pas abîmer la culture. Les interventions doivent être faites sur des adventices jeunes. L'efficacité maximum est obtenue au stade filament des graminées et cotylédons des légumineuses et adventices. Plus le blé se développe, plus les passages seront agressifs. Il est inutile de faire plus de 3 passages ou d'intervenir sur des mauvaises herbes trop développées. Des stratégies avec binage se développent, elles nécessitent un matériel adapté et sont gourmandes en temps. Elles sont préconisées sur des parcelles avec une forte pression en mauvaises herbes sur lesquelles il est préférable de ne pas implanter de blé, mais une culture plus concurrentielle comme l'épeautre ou le seigle.

### **Maladies et ravageurs :**

La protection contre les maladies et ravageurs repose avant tout sur le choix de variétés rustiques, en éliminant les précédents défavorables tel que le maïs pour le risque fusariose ou par le travail du sol contre les ravageurs du sol. Une attention particulière devra être apportée à la carie du blé qui peut rendre impropre à la commercialisation une récolte de blé panifiable ou fourrager. Des semences certifiées indemnes de spores fongiques ou le traitement des semences de ferme avec du tillecur (1kg/q de semences) ou du cerall (1l/q de semences) sont des moyens de protection efficaces contre cette maladie véhiculée principalement par les semences. Des apports de soufre peuvent être réalisés en cas de forte attaque oïdium.

### **Récolte :**

Les rendements varient de 20 à 45 q/ha (rendement moyen de 38q/ha dans l'enquête cultures Franche-Comté en 2011). Le taux de protéines est très variable selon le contexte des parcelles, il s'établissait à 10.3% dans l'enquête cultures Franche Comté 2011. Plusieurs opérateurs locaux peuvent valoriser les blés meuniers à un prix moyen de 380 €/t en 2011.

# Les collections de ressources génétiques

## Généralités

Les différentes collections de blé regroupent pour la plupart des ancêtres du blé, des variétés anciennes et des variétés modernes du blé provenant du monde entier. Les collections françaises concernent aussi bien des variétés-populations du XIXe siècle que les dernières lignées " élites " de la fin du XXe siècle, en passant par les premières variétés sélectionnées en France (collection Vilmorin). A côté de ces ressources patrimoniales, le matériel étranger est, quant à lui, composé de ressources génétiques plus traditionnelles (variétés lignées). La collection INRA (catalogue des ressources génétiques de blé tendre et espèces apparentées) est l'une des premières au niveau européen, le musée des nourritures et des agricultures du monde : « Agropolis Museum »

([http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/bles\\_vilmorin/table\\_espece.php](http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/bles_vilmorin/table_espece.php)) et la collection de Graines de Noé du Réseau Semences Paysanne (<http://www.semencespaysannes.org/index.php>) sont, avec celle de l'INRA, les plus connues au niveau national.

La plupart des collections utilisent des caractères agro-morphologiques et d'intérêt agronomique tels que la hauteur, l'aspect de l'épi (barbe, pilosité), la précocité, la résistance à la verse ou encore aux principaux pathogènes (oïdium, rouilles). Une estimation de certains paramètres technologiques liés à la qualité en panification a été réalisée aussi par spectrométrie dans le proche infra-rouge sur la majeure partie des accessions (<https://www6.clermont.inra.fr/umr1095/Equipes/Infrastructures-experimentales/Centre-de-Ressources-Biologiques/Decrire-et-evaluer-les-collections> ).

## Rôle dans l'évolution des pratiques culturelles

Les collections ont pour objectif de conserver le germoplasme du blé, mais aussi de retracer l'histoire de la sélection du blé pour mieux définir sa généalogie. La collection de Graines de Noé, à laquelle nous nous sommes tout particulièrement intéressés a pour but de pérenniser les variétés anciennes de blé, et surtout de servir de source de germoplasme pour redonner un nouvel élan à la culture biologique, notamment au niveau de la qualité

alimentaire. Cette collection a aussi comme objectif de fournir aux agriculteurs biologiques des semences d'intérêt divers et de sensibiliser le grand public au maintien de la biodiversité dans la culture du blé et des produits dérivés pour l'alimentation humaine. Graines de Noé met aussi sa collection à disposition de la recherche, c'est ainsi que nous avons pu collaborer avec cette association pour le développement de nos travaux sur les mycorhizes du blé.

## **Les microsymbiotes du blé**

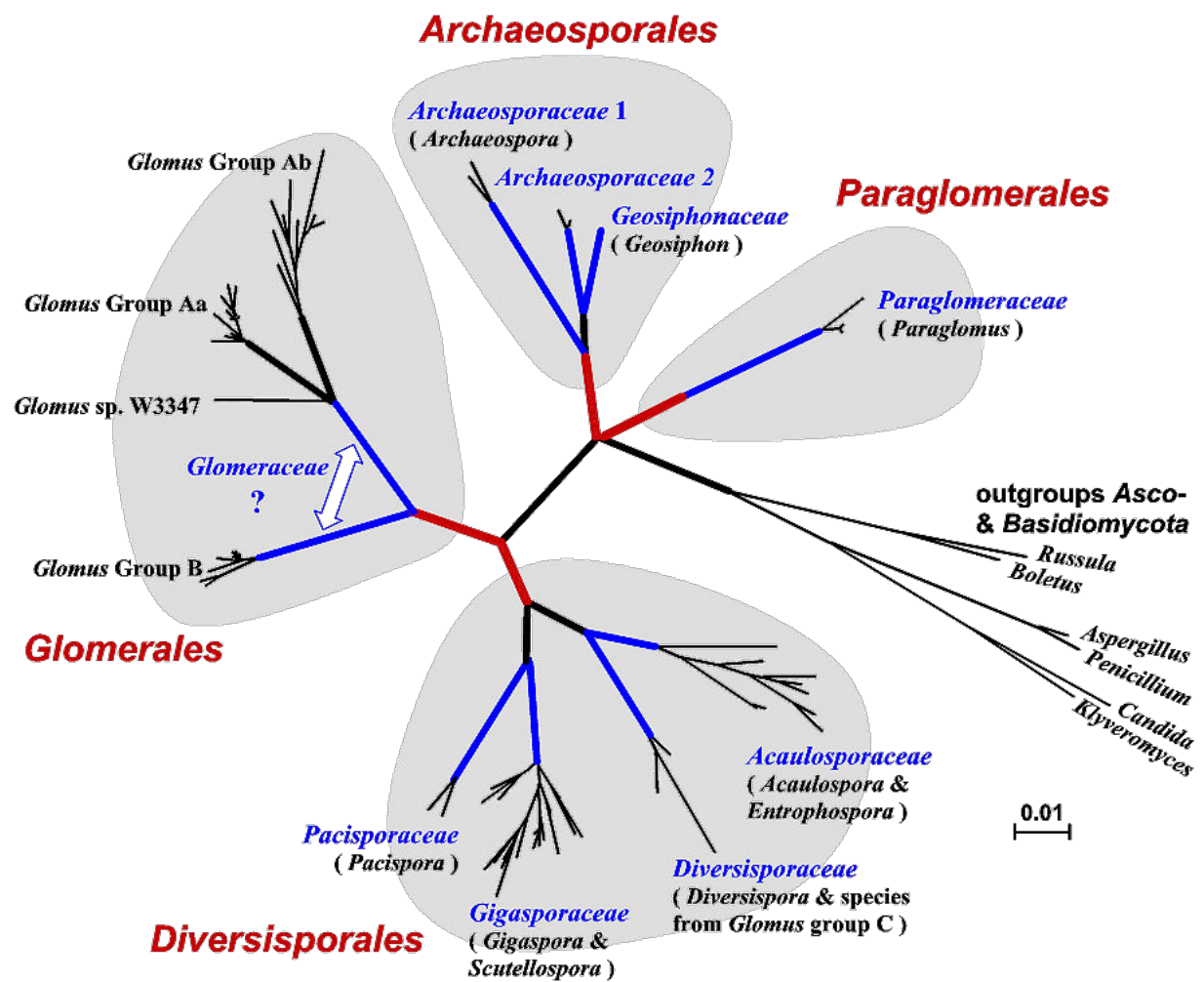
### **Généralités**

Ce n'est que depuis quelques décennies que les botanistes et mycologues ont réalisé que la presque totalité des plantes terrestres vivent en symbiose avec des champignons du sol (Mosse, 1956). Le terme mycorhize, qui résulte de la combinaison de deux mots grecs 'mukès' (champignon) et 'rhiza' (racine), désigne l'association symbiotique entre des champignons bénéfiques du sol et les racines des plantes. Utilisé pour la première fois par Frank (1885), le terme mycorhizes regroupe aujourd'hui plusieurs types de symbioses mycorhiziennes selon le champignon impliqué et les structures symbiotiques formées (Gianinazzi 1983). Le blé formant des endomycorhizes à arbuscules (MA) (Trouvelot *et al.*, 1982), nous nous sommes donc intéressés à leur étude.

### **Les champignons formant les mycorhizes**

Plus de 80% des plantes terrestres forment des symbioses MA et tout particulièrement la très grande majorité des plantes cultivées (Gianinazzi-Pearson 1976 ; Newman et Reddell, 1987; Wang et Qui, 2006). Les champignons mycorhizogènes à arbuscules (CMA) impliqués font partie du phylum des Gloméromycètes qui a été subdivisé en quatre ordres (Glomérales, Archéosporales, Paraglomérales et Diversisporales) (Fig.11) regroupant entre 150 et 200 espèces (Schüssler *et al.*, 2001). Plus récemment, de nouvelles espèces ont été décrites par Schüssler et Walker (2010). Les champignons formant les MA sont tous des biotrophes obligatoires ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas vivre en absence des racines. Les hyphes issus de la germination des spores ne présentent qu'une croissance limitée et ils doivent

coloniser les tissus des racines d'une plante hôte pour se multiplier et se développer sur le long terme (Sekhara Reddy *et al.*, 2009)

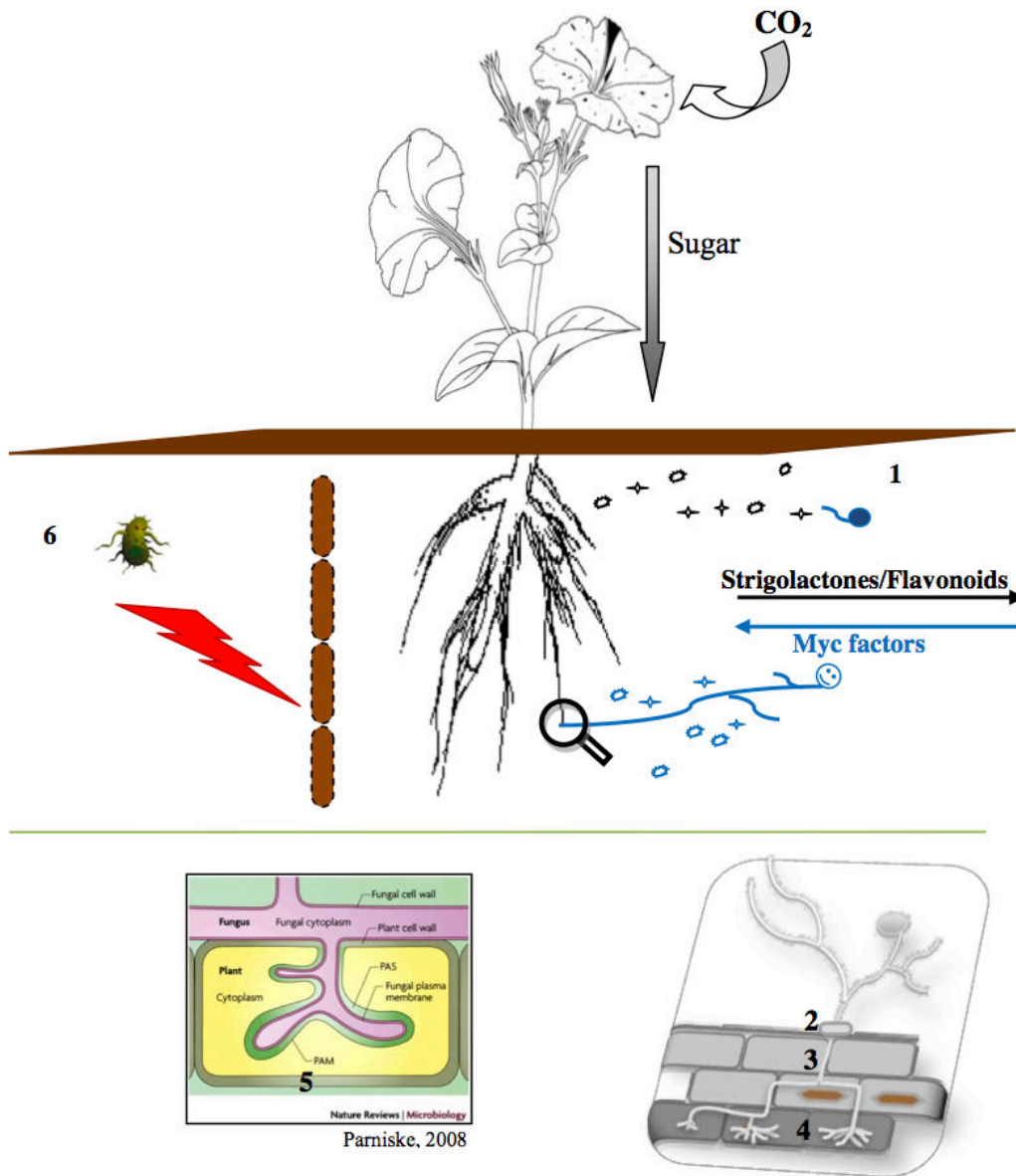


**Figure 11 :** Phylum des Glomérormycètes. (Sources : [http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo\\_taxonomy.html](http://www.tudarmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html))

# Développement des mycorhizes à arbuscule

## La phase présymbiotique

Le dialogue entre les CMA et les racines des plantes commence avant tout contact physique. Après la germination des spores (stade asymbiotique), qui n'a pas besoin de facteur de la plante, le champignon répond à la présence des racines de la plante hôte par une ramification intense des hyphes (phase présymbiotique). Ce phénomène n'est pas observé en présence de racines non-hôte, ce qui suggère que le CMA perçoit un signal émanant de la plante hôte (Giovannetti *et al.*, 1993). Les signaux des plantes dans les exsudats racinaires activent l'expression du gène fongique (Tamasloukht *et al.*, 2003, 2007). Les flavonoïdes contenus dans les exsudats des racines semblent jouer un rôle au niveau du processus de mycorhization (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1989). Récemment, une nouvelle hormone végétale, la strigolactone, a été identifiée dans les exsudats racinaires : cette molécule est soupçonnée d'être impliquée dans le processus de signalisation et stimulerait chez les champignons la respiration et la ramification des hyphes (Akiyama *et al.*, 2005; Besserer *et al.*, 2006) (Fig.12.1 ).



**Figure 12 :** Principales étapes du développement de la symbiose mycorhizienne à arbuscule.

(1) La présence de champignons mycorrhizogène près des racines des plantes hôtes conduit à un échange de signaux entre les deux symbiotes. C'est la phase présymbiotique. (2) Au contact avec la surface des racines, les hyphes fongiques forment une structure appelée " appressorium." (3) À partir de cette structure de reconnaissance le champignon développe des hyphes intraradiculaires et pénètre dans les tissus de la racine jusqu'à ce qu'ils atteignent la couche interne de cellules corticales. (4) le champignon pénètre ensuite, les cellules corticales où il forme des structures intracellulaires appelées à cause de leur forme « arbuscule ». Cette structure qui est bordée du plasmalemme de l'hôte constitue le site actif pour l'échange bidirectionnel de nutriments : eau et éléments minéraux vers la plante, et glucides vers le champignon). (5) L'espace périarbusculaire (EPA) désigne l'interface qui se forme entre la membrane fongique et la membrane périarbusculaire (MPA) de la plante. En plus de l'absorption des nutriments, la colonisation des racines par des champignons MA peut conduire à la protection des plantes contre une large gamme de pathogènes racinaires (6).



A son tour, le champignon libère les molécules signal (appelés facteurs Myc) qui induisent, avant le contact avec la racine, des réponses spécifiques de la racine-hôte via l'activation transcriptionnelle de gènes de la plante associés au processus symbiotique (Kosuta *et al.*, 2003; Weidmann *et al.*, 2004). Outre le fait que les facteurs Myc sont des composés diffusibles qui suscitent des réponses symbiotiques des plantes, on n'avait pas d'idée précise sur leur structure, jusqu'à récemment. En effet, la structure de la molécule libérée par *Rhizophagus irregularis* a été identifiée. Le champignon MA sécrète un mélange de lipochitoooligosaccharides sulfatés et non sulfatés (LCO<sub>S</sub>) qui ont des similitudes structurelles avec des facteurs Nod de rhizobium (Maillet *et al.*, 2011).

### **La phase symbiotique**

Après contact de l'hyphes fongique avec la surface de la racine de l'hôte, la formation de l'appressorium qui en résulte est considérée comme la première étape dans l'interaction symbiotique. L'appressorium constitue le point d'entrée des hyphes du CAM dans la racine (Fig.12.2). Au cours de la formation de l'appressorium, mais avant les premières étapes de la pénétration de la racine, la cellule de l'épiderme sous-jacent, réagit avec un programme de frappe de réorganisation cellulaire pour former le dispositif de pré pénétration (Genre *et al.*, 2005). Cela dépend d'un certain nombre de gènes de la plante, qui ont d'abord été reconnus par l'analyse de mutants de pois défectueux dans le développement des molécules au cours de la symbiose avec des rhizobiums fixateurs d'azote (Gianinazzi-Pearson et Denarié, 1997). Les gènes correspondants ont plus tard été identifiés dans deux légumineuses modèles *Medicago truncatula* et *Lotus japonicum*.

Après la colonisation d'une cellule épidermique, le CMA traverse la couche épidermique et le cortex extérieur intercellulaire dans la symbiose de type *Arum*, ou au niveau intracellulaire, comme dans les mycorhizes de type *Paris* (Smith et Smith, 1997). Quelques jours après la pénétration initiale dans la racine, le champignon forme les premiers arbuscules (*Arum*-type) ou des peletons d'hyphes (*Paris*-type) dans les cellules corticales. Ici, la pénétration dans l'apoplaste est également accompagnée par la formation d'un appareil de pré pénétration, et la formation d'arbuscule par une réorganisation structurelle considérable dans la cellule végétale environnante (Bonfante et Perotto, 1995 ; Genre *et al.*, 2008 ; Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996).

Les signaux échangés dans la mycorrhizosphère conduisent à des modifications spécifiques de l'expression génique chez les champignons et les plantes. L'activation de trois grandes catégories de gènes de plantes a été identifiée comme ayant un rapport lors du processus de colonisation. Ces derniers sont liés : I) aux processus membranaires et de la paroi cellulaire, ii) au fonctionnement métabolique et iii) aux réactions de défense des plantes (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996; Blee et Anderson, 2000; Franken *et al.*, 2000; Gallou *et al.*, 2011a).

L'activation des défenses de la plante reste inférieure à celle de l'interaction plantes/champignon pathogènes, ce qui semble être un élément clé dans l'établissement de la compatibilité entre les partenaires mycorrhiziens (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996). Cependant, dans les écosystèmes naturels et contrôlés, ces réactions de défense des plantes sont confrontées à de nombreux autres facteurs externes comme la disponibilité des nutriments et de l'eau, les agents pathogènes des plantes ou de la pollution des sols.

Chez les champignons, on connaît peu de molécules ou de gènes qui pourraient être impliqués dans le développement des MA au cours des différentes étapes des premières interactions de signalisation profondes.

Parallèlement à la croissance intraracinaire, les CMA forment un réseau d'hyphes extraracinaire qui se développe dans le sol; ce réseau permet au système racinaire d'avoir accès à des nutriments minéraux et de l'eau, qui ne lui sont pas accessible (Neumann et George, 2005). Les hyphes extraracinaires contribuent également à la stabilisation des agrégats du sol et donc à améliorer la qualité des sols (Miller et Jastrow, 1990; Kabir et Koide, 2002). Un autre aspect important de ces réseaux d'hyphes est leur rôle dans la mise en place de la symbiose mais aussi qu'elles permettent d'établir un lien entre les plantes qu'elles soient de la même ou d'espèces différentes (Selosse *et al.*, 2006) ; par ces liens les plantes peuvent échanger non seulement des éléments minéraux (Meding et Zasoski, 2008), mais aussi communiquer entre elles (Song *et al.*, 2010). Le cycle de vie des CMA est complété quand le mycélium extraracinaire produit une nouvelle génération de spores qui à leur tour peuvent générer des nouvelles hyphes et initier un nouveau cycle. Les spores constituent les principaux organes de survie des CMA, elles sont capables de tolérer des conditions défavorables du sol pendant de nombreuses années (Neumann et George, 2005).

# Rôles des mycorhizes dans la nutrition minérale et la résistance aux stress des plantes

## Echange de nutriments

Les arbuscules représentent le point de contrôle des échanges entre les deux symbiotes mycorhiziens où une forte activité de transport se produit non seulement de la plante aux champignons, mais également dans le sens du champignon à la plante, via l'interface symbiotique composée de la membrane périarbusculaire de la plante et de la membrane plasmique du champignon séparés par une zone apoplastique (Hause et Fester, 2005).

Chez les plantes mycorhizées, on observe une augmentation nette de la photosynthèse qui se traduit par une augmentation de photosynthats dans les racines mycorhizées, estimée jusqu'à 20% d'augmentation par rapport aux plantes non mycorhizées (Bago *et al.*, 2000). Les glucides « source de vie » sont transférés de la feuille aux racines sous forme de saccharose via le phloème et transformé en glucose et en fructose (Blee et Anderson, 1998). Le glucose semble être transféré vers le champignon symbiotique (Solaiman et Saito, 1997; Boldt *et al.*, 2011). Toutefois, un transporteur de monosaccharide récemment isolé chez *R. irregularis* semble ne pas seulement transporter le glucose, mais aussi le xylose, sucre de la paroi cellulaire végétale en tant que source de carbone alternative pour les CMA (Helber *et al.*, 2011). La localisation de son expression, par ailleurs, suggère que le transfert de glucides ne se produit pas uniquement dans les arbuscules, mais aussi dans les hyphes intraracinaires.

Chez les plantes mycorhizées, la voie d'absorption directe de phosphate inorganique (Pi) du sol par la racine est complétée par la voie mycorhizienne qui implique l'absorption de Pi par les hyphes, son transport et son transfert à la plante grâce à des transporteurs Pi spécifiques de la mycorhize (Bucher, 2007; Smith *et al.*, 2011). Beaucoup de transporteurs Pi des plantes ont été caractérisés et classés comme transporteurs d'affinités élevées ou basses, dont certains sont spécifiques au processus de mycorhization.

Bien que l'amélioration de l'assimilation des nutriments par la symbiose MA concerne principalement le Pi, le partenaire fongique peut également fournir à la plante hôte de l'azote (N) (Hawkins *et al.*, 2000). Les nitrate d'ammonium, l'arginine et l'ammonium seraient amenées à la plantes par le mycélium extraracinaire (Govindarajulu *et al.*, 2005 ; Chalot *et al.*,

2006 ; Guether *et al.*, 2009). Les capacités de transport fongiques de l’N et de P sont du même ordre (Smith et Read, 2008), mais la plante a besoin de dix fois plus de N que de P, de sorte que l’apport fongique de l’N serait probablement moins important pour les effets mycorhiziens à l’égard de la croissance des plantes.

### **Bioprotection contre le stress environnementaux.**

- **Stress abiotiques :**

En plus d'influencer la nutrition minérale des plantes, les CMA améliorent la performance de leurs hôtes sur les sols pollués (Aloui *et al.*, 2009; Rivera-Becerril *et al.*, 2002; Gonzalez-Chavez *et al.*, 2002.), sous le stress de la sécheresse (Augé, 2001) ou à des concentrations élevées de sels (Ruiz-Lozano et coll., 1996). Par conséquent, les contributions des MA ont été étudiées dans différents domaines comme la régénération du paysage, la lutte contre la désertification ou la bioremédiation des sols contaminés (Jeffries *et al.*, 2003).

Les mécanismes qui contribuent à cette tolérance vis-à-vis des stress abiotiques chez les plantes mycorhizées ne sont pas entièrement compris (Schützenduebel et Polle, 2002). Les chemins de chélation des métaux lourds ne semblent pas fonctionner dans une telle tolérance mycorhizienne améliorée (Rivera-Becerril *et al.*, 2005) et des études récentes ont montré l'implication de la symbiose mycorhizienne dans des activités anti-oxydantes, en particulier dans l'accumulation des espèces réactives oxygénées (ROS) (Aloui *et al.*, 2009). En fait, plusieurs observations ont montré que la tolérance induite par les CMA contre différents stress abiotiques (métaux lourds, sel ou à la sécheresse) peut être ROS-dépendantes (Ruiz-Lozano *et al.*, 1996, 2001; Bowler et Fluhr, 2000; Huang *et al.* , 2010). En parallèle à l'amélioration de l'activité anti-oxydante des végétaux, il a été montré que l'accumulation au niveau fongique de la six glutathion-S-transférase est régulée à la hausse dans les hyphes extraracinaire de *R. irregularis* poussant dans un sol contaminé en métaux lourds (Waschke *et al.*, 2006).

- **Stress biotiques :**

La colonisation des racines par des CMA peut conduire à la protection des plantes contre une large gamme de pathogènes racinaires. (Hayek, 2012). Depuis une trentaine d'années, on sait que la symbiose peut réduire l'incidence et la gravité des maladies causées par différents agents pathogènes des racines (Dehne et Schönbeck, 1979; Dehne, 1982; Cordier *et al*, 1998; Benhamou *et al*, 1994 ; Yao *et al*, 2003 ; Li *et al*, 2006). L'effet de la symbiose MA sur les agents pathogènes des feuilles est variable et semble dépendre du mode de vie des agents pathogènes. Par exemple, les feuilles des plantes mycorhizées peuvent être plus sensibles aux agents pathogènes biotrophes comme l'oïdium et la rouille des champignons, mais plus résistante aux phytoplasmes et aux champignons pathogènes nécrotrophes (Gernns *et al*, 2001 ; Lingua *et al*, 2002; Fritz *et al*, 2006 ; de la Noval *et al*, 2007 ; Gallou *et al*, 2011b). En revanche, le développement de MA réduit constamment le développement des maladies causées aux racines par un nombre important d'agents pathogènes présents dans le sol. Les effets les plus fréquemment rapportés concernent la réduction de :

- L'incidence et/ou de la gravité de la pourriture des racines ou du flétrissement causé par des champignons pathogènes tels que *Rhizoctonia*, *Fusarium* ou *Verticillium* ;
- La pourriture des racines causée par des Oomycètes comme les *Phytophthora*, *Pythium* ou *Aphanomyces*);
- Les effets néfastes causés par les nématodes parasites comme *Pratylenchus* ou *Meloidogyne* ; (pour une liste complète, voir le tableau 1 de Whipps 2004).

La bioprotection des racines contre ces agents pathogènes dépend généralement d'une symbiose mycorhizienne pleinement établie (Bäertschi *et al*, 1981 ; Rosendahl, 1985 ; Slezack *et al*, 2000), bien que certains résultats semblent suggérer des effets protecteurs dès le stade pré-symbiotiques des champignons MA (Caron *et al.*, 1986; Krishna et Bagyaraj 1983; St-Arnaud *et al* 1997 ; Gallou, 2011b). Cependant, contrairement aux études sur l'influence des MA sur le stress abiotique, les effets de différents isolats de champignons MA sur la tolérance au stress biotique ont rarement été comparés (Franken et George, 2006). Dans l'étude de Pozo *et al.*, (1999), il est rapporté que *F. mosseae* a permis de réduire l'indice de la maladie de

racines de tomate infectées par *P. parasitica*, alors que *R. irregularis* n'a apporté aucune protection.

Bien que la bioprotection des MA contre les agents pathogènes des plantes a été souvent confirmée, les mécanismes sous-jacents, restent à préciser. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ce phénomène qui résulterait des changements morpho physiologiques de la plante hôte induits par la symbiose. Il s'agit notamment de: (i) l'amélioration de la nutrition des plantes, (ii) la concurrence pour la photosynthèse et les sites de colonisation des racines entre un CMA et un agent pathogène (iv) des changements dans les populations microbiennes de la rhizosphère. Ces changements pourraient atténuer les dommages aux racines causés par les agents pathogènes, ou stimuler les composants de la rhizosphère microbienne avec une activité antagoniste envers certains agents pathogènes racinaires (Azcòn-Aguilar et Barea, 1997, Barea *et al.*, 2005). Cependant, les résultats de plusieurs études excluent l'hypothèse que l'amélioration de la nutrition minérale soit à l'origine de la bioprotection induite par les MA (Shaul *et al.*, 1999; Fritz *et al.*, 2006). Une autre explication est basée sur l'hypothèse que la colonisation des racines par les CMA induirait des mécanismes de défense chez la plante-hôte (Cordier *et al.*., 1998 ; Pozo *et al.*, 2002 ; Pozo et Azcón-Aguilar, 2007).

- **Résistance induite par les mycorhizes (RIM)**

La présence des CMA dans les tissus de l'hôte stimulerait des réactions de défense contre les attaques d'agents pathogènes; ce phénomène est appelé 'Résistance induite par les mycorhizes' (RIM). Cette notion n'est pas récente; en fait, les premiers travaux ont déjà montré que la bioprotection mycorhizienne est associée à une stimulation de mécanismes de défense (Baltruschat et Schönbeck, 1972; Dehne et Schönbeck, 1979, Bärtschi *et al.*, 1981). Sur la base du fait qu'un champignon mycorhizogène est un micro-organisme biotrophe, il existerait une voie de signalisation comparable à celle induite par des bactéries biotrophes ou certains agents pathogènes. En plus des facteurs Myc mentionnés ci-dessus, les CMA semblent posséder des MAEM (Microbes associés aux échantillons moléculaires) qui induiraient chez les plantes colonisées l'expression de gènes de défense. Bien que transitoire, cette expression pourrait contribuer au rehaussement de la résistance (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996). Récemment une petite molécule (SP7) a été identifiée chez *R. irregularis* qui

contribue à l'état biotrophe des CMA dans les racines en neutralisant le système immunitaire de la plante-hôte (Kloppholz *et al.*, 2011).

La modification aux niveau endogène de certaines phytohormones a également été observée au cours des interactions MA indiquant un rôle de ces molécules dans la RIM (Ludwig-Müller, 2000; Hause *et al.*, 2007; Herrera-Medina *et al.*, 2007). Les trois phytohormones AS (Acide Salicylique), AJ (Acide Jasmonique) et ET (Ethylène), qui sont impliquées dans les voies de signalisation de l'expression des gènes de défense, sont également régulées. Cela a conduit à l'hypothèse qu'un déclenchement direct ou indirect des voies régulées par la signalisation de ces phytohormones pourrait être fortement impliquées dans la protection contre les stress biotiques induits par les CMA (Garcia-Garrido et Ocampo, 2002). Cependant, le rôle spécifique des trois phytohormones dans la RIM n'est pas bien compris (Kunkel et Brooks, 2002).

La RIM semble être à la fois un phénomène localisé et systémique. Une étude détaillée sur les tomates a montré que les cellules contenant les arbuscules étaient protégées contre *P. parasitica*, cela grâce au renforcement de la paroi cellulaire associée à des composés phénoliques et des dépôts de callose (Cordier *et al.*, 1998). L'activation des gènes liés à la défense suite au développement des arbuscules est un événement bien décrit chez les MA et est considéré comme étant un des premier facteur de cette immunité des cellules végétales (Dumas-Gaudot *et al.*, 2000). Les systèmes de rupture racinaire ont montré que le développement des pathogènes est aussi limité dans les parties non-mycorhizées du systèmes racinaire (Davis et Menge, 1980; Rosendahl, 1985; Cordier *et al.* 1998; Elsen *et al.*, 2003). Cependant, il y a seulement très peu d'études concernant des mécanismes moléculaires impliqués dans la RIM ; des molécules telles que la callose, la PR-1, les  $\beta$ -glucanases 1,3 et des composés phénoliques semblent néanmoins être constamment associés à ce phénomène (Cordier *et al.*, 1998 ; Pozo *et al.*, 2002).

## **Exploitation des CMA dans les cultures de blé**

Les sols agricoles contiennent des populations variables de CMA. Ceux-ci ont souvent été soumis à des bouleversements dus à l'intervention humaine. De manière générale la flore microbienne du sol est souvent épuisée par les pratiques agricoles qui réduisent le potentiel

bénéfique de ces populations sur les plantes cultivées (Jeffries et Barea, 2001). Par exemple, il est aujourd'hui démontré que l'augmentation de la teneur en phosphore des sols par les pratiques intensives agricoles peut diminuer significativement la population mycorhizienne (Smith et Read, 1997). Les traitements des sols avec des biocides ou par fumigation avant plantation détruisent aussi la population de CMA. En voulant détruire les pathogènes, on détruit aussi les micro-organismes symbiotiques comme les champignons formant les mycorhizes. Il a aussi été démontré que le labour peut réduire fortement la population de CMA (Mc Gonigle et Miller, 1993). L'assolement des cultures a aussi un impact non négligeable sur les populations mycorhiziennes. Certaines cultures, comme le colza ou la betterave, sont récalcitrantes à la mycorhization. Leur implantation réduit fortement la présence de ces CMA. Il est à noter que l'utilisation de fongicides appliqués en foliaire n'a que très peu d'influence sur une mycorhization bien établie. En revanche, l'enrobage des semences ou le traitement du sol peut avoir un effet dépressif sur la symbiose mycorhizienne (Delaunois et Sanchez, 2013).

Dans les situations où la population des CMA est faible, à priori il convient d'inoculer. Cette approche a été testée à maintes reprises par des chercheurs et agronomes émanant d'instituts, d'universités ou de sociétés privées (Abbott et Robson, 1982, 1991 ; Menge, 1983, 1984 ; Gianinazzi *et al.*, 1989, 1990 ; Sieverding, 1991 ; Bethlenfalvay et Lindernman, 1992 ; Wood et Cummings, 1992 ; Dodd et Thompson, 1994...) avec des succès variables. Plusieurs inocula mycorhizogènes existent actuellement sur le marché, mais le choix de l'inoculum par l'agriculteur reste difficile du fait que l'efficacité des inoculants varie selon la culture et le type de sol (Déziel, 2000). D'une manière générale la maîtrise de la technologie mycorhizienne exige une connaissance de la biodiversité des espèces impliquées et de leur efficacité par rapport aux espèces végétales ciblées. Gianinazzi *et al* (1989) ont depuis longtemps défini une stratégie pour la réussite d'une inoculation, mais son application requiert, d'une part la connaissance des précédents culturels du champ à inoculer et, d'autre part une analyse préalable du potentiel mycorhizogène du sol et de sa réceptivité à l'inoculant retenu. A notre connaissance très peu de sociétés vendant des inocula proposent ce type de service. Pour notre expérimentation au champ les résultats de ces analyses nous étaient connus.



## Objectifs d'études.

Au vu de l'intérêt du blé et des mycorhizes mon travail de thèse a eu comme objectifs :

(i) La mise en place d'une base de données de 225 variétés anciennes de blé de la collection de Graines de Noé à l'aide du logiciel FILEMAKE, basée sur des critères morphologiques, taxonomiques et écologiques. Au sein de ce programme nous avons créé une rubrique spécifiquement dédiée à l'aptitude de ces blés à se mycorhizer.

(ii) L'analyse de l'aptitude à mycorhizer spontanément au champ de 53 variétés anciennes de blés de la collection de Graine de Noé.

(iii) L'évaluation en serre chez 18 variétés anciennes de blé de la collections de Graines de Noé de leur aptitude à mycorhizer, et des différences par rapport à la réponse au champ (lorsque les données étaient disponibles), suite à l'apport d'un inoculum exogène (en comparaison 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique ont été éprouvées) et enfin

(iv) L'appréciation au champ de l'impact de l'apport d'un inoculum commercial sur le rendement et la qualité du grain chez 4 variétés anciennes de blé de la collection de Graines de Noé, retenues pour leur niveau différent de sensibilité au développement de la symbiose mycorhizienne.

L'ensemble de ces travaux a été conduit dans le but de contribuer à l'utilisation des CMA en tant que bio-intrants en production végétale.

# **Chapitre 1 : Matériels et méthodes**

# 1 – Mise en place de la base de données

Pour la réalisation de la base de données basée sur des critères morphologiques, taxonomiques et écologiques, le logiciel FILEMAKER pro (Version 12.0v5) a été utilisé pour créer et structurer diverses informations sous forme de rubriques. L'architecture de cette base de données a été décidée et conçue en concertation avec les membres de Graines de Noé. En effet, à l'issue d'une réunion avec Bernard Ronot et Daniel Wipf nous avons décidé ensemble les différentes interfaces, les rubriques leur intitulés et leur contenu pour une meilleure utilisation de l'outil par les principaux utilisateurs « les membres de Graines de Noé ». Les rubriques de la première interface 1 présentent les informations suivantes : numéro d'identification à la ferme et de stockage, date d'arrivée à la ferme, genre, espèce et type de blé, autorité de la variété, sol d'origine, descriptions du phénotype, pays d'origine, sol de culture, dates de cultures, la mycorhization et finalement remarques diverses (Fig.13). La deuxième interface « Images » permet de visualiser les variétés (plante entière, racines mycorhizées, épis de blé...) (Fig.14) et à travers la troisième interface « document » les documents détaillant les variétés. Nous avons enregistré dans la base de données 230 variétés anciennes de blé de la collection de l'association Graines de Noé (Fig.15).

**Informations** **Graines de Noé**

N° BR: 1 N° Stock: Arrivée Ferme Ronot: 27/10/2001

Genre: Triticum Espèce: aestivum Nom du blé: AUTOMNE ROUGE BARBU

Autorité: variété locale Sol Origine: Descriptions: Blé tendre, Blé d'hiver, barbu, blé très précoce.

Pays: France Isolat/culture: Latitude: Références: Catalogue des ressources génétiques des blés tendres et espèces associées

Origine/Collecteur: Conservatoire de Clermont-Ferrand Jean KOENIG Ecosystème: Conservation:

Sol de culture: Bonne terre (2003 à 2006 et 2010) Date dernière multiplication: 27/10/2010

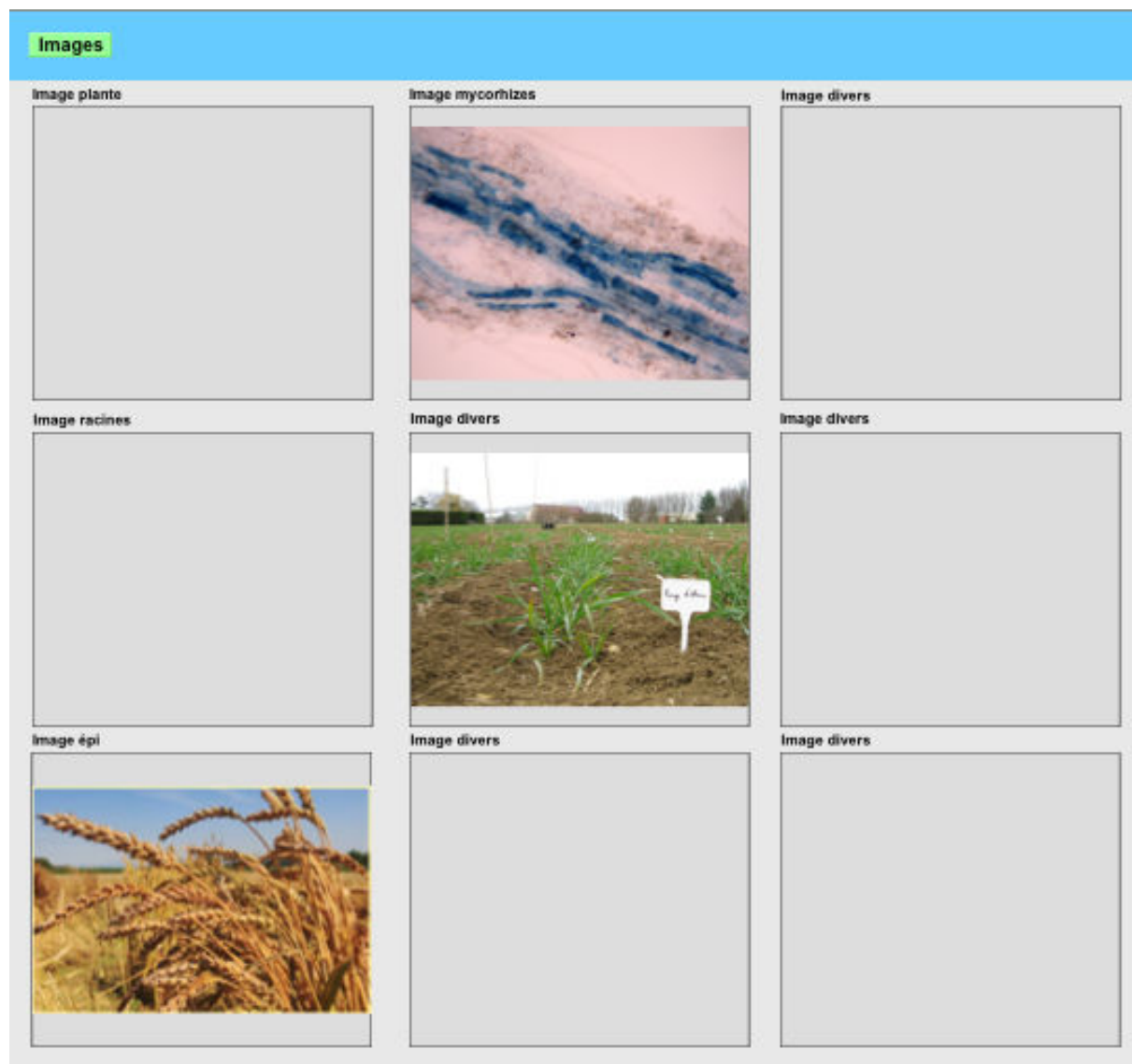
Multiplication au champ: 27/10/2001, 14/10/2002, 18/10/2003, 27/10/2006, 03/11/2007, 24/10/2008, 07/11/2008, 15/10/2010, 27/10/2010

Analyses: 27/10/2001 400 grains sémés, hauteur moyenne paille :120cm, récolte 490 g/m2. 14/10/2002 27 grains sémés pieds levés au 13/12/02: 23 . Pieds au

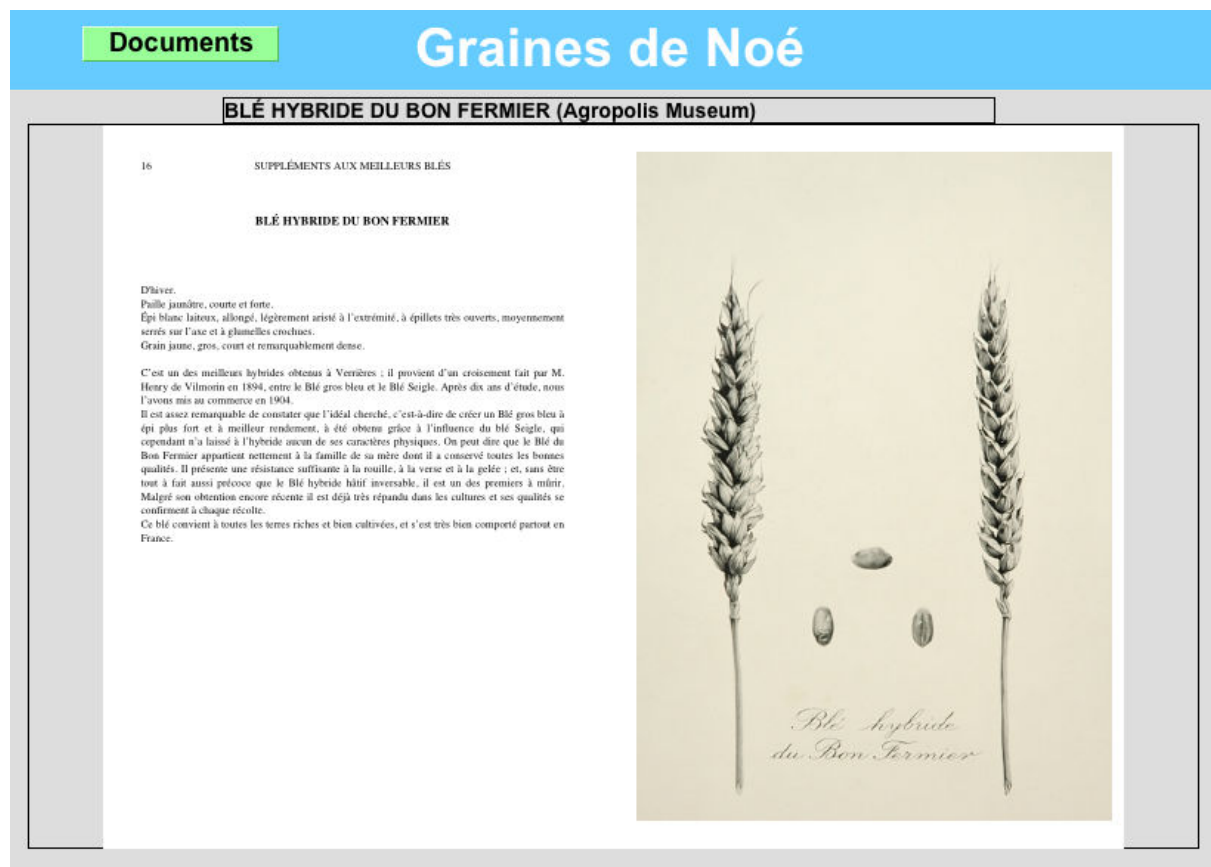
Séq ADN: Notes: 18/10/2003. en place aux tilleuls. 27/10/2006. en place aux tilleuls se bat très bien. 03/11/2007. en place à la garenne parcelle aboutissant sur la serre, récolté le

Mise en place de la mycorhization: Intensité de mycorhization:

Figure 13 : Interface 1 : Informations



**Figure 14 :** Interface 2 : Images



**Figure 15 :** Interface 3 : Documents

## 2 – Matériel biologique

### 2.1 –Blé

Les 53 variétés de blé utilisées pour ce travail (cf figure 16) ont été obtenues auprès de l'association Graines de Noé (<http://www.graines-de-noe.org>) qui nous a fourni à titre gracieux les graines nécessaires à la réalisation de l'ensemble des expériences. Les listes des variétés sont données dans les figures représentant chaque expérience.

5
7
8
14
16
21
37
42
46
48
80
93
Alauda
Amidonnier blanc
Atar
Automne rouge
Barbu du Maconnais
Blanc de lorraine
Blé autrichien
Blé de la saone
Blé des Vosges
Blé du jura
Blé du Maroc
Blanc du Morvan
Blé pharaon
Capelli
Chiddam d'automne
Concorde
Dattel
Emmer Noir
Engrain
Engrain allmand
Engrain Noir
Goldendrop
Haut brionnais mutique
Huabey
James
Jejar espagnol
korazan
Mottin
Noe
Nonette de Losane
Petit rouge du morvan
Poulard d'Australie
Poulard de Beauce
Prince Albert
Redon
Renan
RLGK
Rouge d'alkirch
Rouge d'Alsace
Rouge du Roc
Touzelle

**Figure 16 :** liste des 53 variétés utilisées pour l'évaluation au champ de la mise en place de la symbiose avec la population indigène de champignons mycorhiziens.

## 2.2 – Champignons mycorhizogènes

Selon les expériences, nous avons utilisé d'une part des inocula de laboratoire contenant un seul champignon, à savoir *Rhizophagus irregularis* BEG140, ou *Funneliformis mosseae* BEG95. D'autre part, nous avons utilisé un inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup>, fourni par l'entreprise INOCULUM PLUS (France), et contenant 6 champignons mycorhizogènes décrits par le producteur (SYMBIOM) comme étant : *Glomus intraradices*, *G. claroideum*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. etunicatum*, *G. microaggregatum* et enregistrés dans l'IBG sous les numéros, respectivement, de BEG140, BEG96, BEG95, BEG199, BEG92, BEG56 (<http://www.i-beg.eu>). Le nombre de propagules fongiques contenues dans ce produit est de 150.000/kg. ([www.inoculumplus.eu](http://www.inoculumplus.eu)).

## 3 – Expérimentation au champ de 53 variétés anciennes de blé

### 3.1 – Mise en place de la symbiose

Pour l'évaluation de l'aptitude des blés à former des mycorhizes au champ, cent vingt parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> et soixante huit parcelles de 17m<sup>2</sup> ont été mises en place au Technopole AgrOnov (F-21110 Bretenières), sur un champ cultivé en prairie depuis 8 ans, afin d'accueillir 120 variétés de la collection de Graines de Noé. Parmi celles-ci, 53 variétés ont été sélectionnées pour leurs intérêts en agriculture biologique par les membres de l'association de « Graines de Noé » (Fig. 17).

Les prélèvements des 53 variétés ont été réalisés dans les parcelles de 17m<sup>2</sup> qui ont servi à la multiplication de certaines de ces variétés. La mise en place de la symbiose avec la population de CMA présent dans le sol a été évaluée à trois stades phénologiques de développement : au tallage (après 20 semaines de culture), à l'épiaison (après 30 semaines de culture) et à maturité des épis (après 39 semaines de culture).



A chaque stade phénologique de développement, 3 plantes de chaque variété ont été prélevées sur l'ensemble de la parcelle. Le système racinaire des plantes est séparé de la partie aérienne. Les racines sont lavées à l'eau du robinet puis placées dans un pilulier contenant une solution de KOH à 10% pendant 1h dans une étuve à 90°C afin de digérer partiellement les racines pour mieux visualiser le champignon mycorhizogène à la loupe binoculaire. Les racines sont ensuite rincées 3 fois à l'eau du robinet, puis incubées dans une solution de bleu trypan pendant 15 mn dans une étuve à 90°C (Phillips et Hayman, 1970). Après coloration, les racines de chaque plante sont soigneusement observées à la loupe afin de déterminer la présence ou non de champignons mycorhiziens.



**Figure 17 :** Expérimentation au champ de 53 variétés de blé.



### 3.2 – Evaluation du taux de mycorhization

Nous avons choisi trois variétés de blé représentatives de l'ensemble des résultats sur l'aptitude à former des mycorhizes avec la population indigène de champignons présents dans le sol. Pour la mesure du taux de mycorhization, les racines de 3 plantes de chaque variété ont été traitées comme décrit ci-dessus. Après coloration, 15 fragments de racine d'environ 1 cm de long sont montés entre lame et lamelle, à raison de 2 lames de 15 fragments par plantes (Fig.18). Le taux de mycorhization a ensuite été effectué par observation au microscope optique selon le protocole de Trouvelot *et al.* (1986). Il s'agit d'une méthode de détermination du taux de colonisation mycorhizienne des racines. Elle consiste à marquer sur une fiche spéciale les notes d'estimation mycorhizienne correspondantes aux observations microscopiques selon un barème de 6 classes notées de 0 à 5, et la richesse en arbuscules selon un barème de 4 classes notées de A0 à A3 (Fig.19). Les valeurs obtenues pour les différentes classes sont utilisées pour calculer les paramètres F%, M%, m%, a% et A% (Voir plus loin). Ces calculs sont effectués avec le programme MycoCalc (Trouvelot *et al.*, 1986) (<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>). Seules seront présentées dans notre rapport les valeurs F% M% et A% qui sont les plus importantes pour l'analyse du taux de mycorhization.

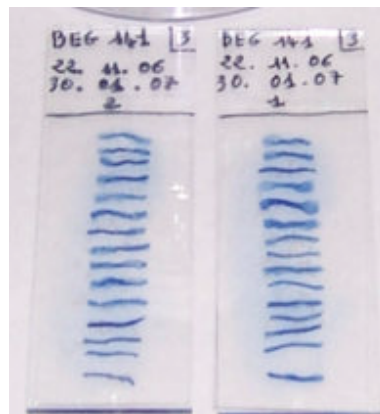
- F% : Fréquence de la mycorhization du système racinaire = (nombre de fragments mycorhizés/nombre de fragments total) X 100.

- M% : Intensité globale de la colonisation mycorhizienne du système racinaire =  $(95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / (\text{nombre total})$ , où  $n_5$  est le nombre de fragments dans la classe 5,  $n_4$  est le nombre de fragments dans la classe 4, etc.

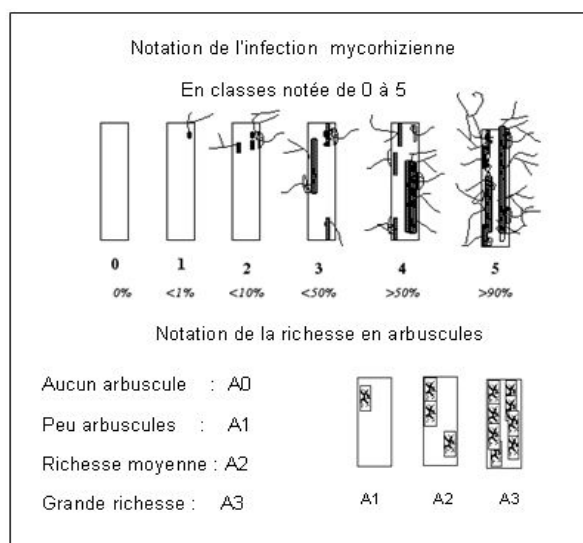
- m% : Intensité de la colonisation mycorhizienne des fragments mycorhizés =  $M \times (\text{nombre fragments total}) / (\text{nombre fragments mycorhizés})$ .

- a% : Abondance en arbuscules dans les fragments mycorhizés =  $(100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1) / 100$ , où  $mA_3$ ,  $mA_2$ ,  $mA_1$  sont les pourcentages de m, respectivement affectés des notes A3, A2, A1, avec  $mA_3 = ((95n_5A_3 + 70n_4A_3 + 30n_3A_3 + 5n_2A_3 + n_1A_3) / \text{nombre de fragments mycorhizés}) \times 100 / m$ , et de même pour A2 et A1.

- A% : Abondance en arbuscule dans le système racinaire =  $a \times (M / 100)$ .



**Figure 18 :** Fragments de racines montées entre lame et lamelle



**Figure 19:** Notation de la colonisation mycorhizienne et de l'abondance en arbuscules (d'après Trouvelot *et al.*, 1986)

### **3.3 – Evolution de la symbiose durant le développement du blé**

Les mesures décrites dans la partie (3.2) ont été réalisées aux trois stades phénologiques suivants : le Tallage (après 20 semaines de culture), l'Epiaison (après 30 semaines de culture) et à Maturité des épis (après 39 semaines de culture).

## **4 – Expérimentation en serre de 8 variétés anciennes de blé et 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique.**

### **4.1 – Mise en place**

Les graines de huit variétés de blés anciens (Rouge d'Alsace, Rouge d'Altkirch, Blé autrichien, Alauda, Blé de la Saône, Rouge du Roc, Rouge de Bordeaux et Blanc de Lorraine) et huit variété récentes utilisées en culture biologique (R1, R5, R18, R49, R59, R33, R25 et R10) ont été stérilisées à la surface dans une solution d'hypochlorite de calcium à 7% pendant 5 minutes, rincées à l'eau osmosée stérilisée. Les graines ont ensuite été mises à vernaliser pendant 4 semaines à 4°C dans des boîtes de Pétri stériles avec une photopériode de 12h. Au stade 3 feuilles, chaque plantule a été repiquée dans un pot en terre cuite, à raison d'une plante par pot de 1,2 litres contenant de la terre provenant : (i) des prairies de Chazeuil, (ii) des parcelles servant à la culture biologiques de Fenay et (iii) du sol d'Epoisses (Fig.20). Avant utilisation, cette terre a été séchée, calibrée sur tamis de 5mm et mélangée de manière homogène avec 25% de gravier stérile. Les plantes sont arrosées quotidiennement à l'eau osmosée. L'unique traitement réalisé pour cette analyse a été sol non désinfecté et non inoculé.



**Figure 20:** Culture en serre de 8 variétés anciennes de blé et 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique.

#### **4.2 – Evaluation du taux de mycorhization de 8 variétés anciennes de blé sur de Chazeuil.**

Le taux de mycorhization a été évalué sur 3 plantes de chaque variété après 6 semaines de culture des blés sur le sol de Chazeuil selon la méthode de Trouvelot *et al* (1986)

#### **4.3 – Evaluation du taux de mycorhization de 8 variétés récentes de blé utilisées en culture biologique sur sol de Fenay.**

Le taux de mycorhization a été évalué sur 3 plantes de chaque variété après 6 semaines de culture des blés selon sur le sol de Fenay la méthode de Trouvelot *et al* (1986)

## 4.4 – Evaluation du taux de mycorhization sur d'Epoisses.

Les graines de huit variétés de blés anciens (Rouge d'Alsace, Rouge d'Altkirch, Blé autrichien, Alauda, Blé de la Saône, Rouge du Roc, Rouge de Bordeaux et Blanc de Lorraine) et huit variétés modernes utilisées en agriculture biologique (R1, R5, R18, R49, R59, R33, R25 et R10) ont été stérilisées à la surface dans une solution d'hypochlorite de calcium à 7% pendant 5 minutes, rincées à l'eau osmosée stérilisée. Les graines ont ensuite été mises à vernaliser pendant 4 semaines à 4°C dans des boîtes de Pétri stériles avec une photopériode de 12h. Au stade 3 feuilles, chaque plantule a été repiquée dans un pot en terre cuite, à raison d'une plante par pot de 1,2 litres contenant de la terre provenant du domaine d'Epoisse (INRA de Dijon). Avant utilisation, cette terre a été séchée, calibrée sur tamis de 5mm, stérilisée à l'étuve pendant 6 heures à 180°C ou non et mélangée de manière homogène avec 25% de gravier stérile. Au moment du repiquage, les pots ont été inoculés ou non (plantes témoins) au niveau des racines avec 30g d'inoculum de *F. mosseae* (BEG 12) ou *R. irregularis* (BEG 141), puis arrosés quotidiennement à l'eau osmosée. Chaque plante a reçu jusqu'à deux semaines après repiquage 7ml (puis 20ml sept semaines plus tard) d'une solution nutritive sans phosphore (Fig.21). Les traitements suivants ont été réalisés : Sol non désinfecté. (T), Sol désinfecté (TD) Sol désinfecté et inoculé avec *R. irregularis* BEG 141. (DGi) et Sol désinfecté et inoculé avec *F. mosseae* BEG 12 (DGM) Les caractéristiques de la terre utilisée sont les suivantes : sable 9%, limon 60%, argile 31%, P disponible (Olsen) 56µg/g, NO<sup>3-</sup> 7,7 µg/g, pH (H<sub>2</sub>O) 7,1.

Le taux de mycorhization a été évalué sur 3 plantes de chaque variété 11 semaines de culture des blés selon la méthode de Trouvelot *et al* (1986)

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0,03	MnSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O	0,001
KNO <sub>3</sub>	0,122	ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,0005
KOH	0,04	CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0,000125
Mg SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,024	MoNH <sub>4</sub>	0,000025
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,00075	Fe EDTA	0,00649

**Figure 21** : Solution nutritive (gramme / litre). (Bertheau *et al.*, 1980)

## **4.5 – Evaluation de la biomasse.**

Les biomasses (aériennes et racinaires) de six variétés anciennes (Rouge d'Alsace, Rouge d'Altkirch, Blé autrichien, Alauda, Blé de la Saône et Blanc de Lorraine) et récentes (R1, R5, R18, R49, R33 et R10) utilisées en agriculture biologique ont été mesurées après 11 semaines de culture. Après la pesée des deux parties de la plante, celles-ci sont séchées à l'étuve jusqu'à déshydratation complète, l'évaluation des biomasses sèches est ensuite réalisée.

## **4.5 – Test de viabilité des grains.**

Deux variétés anciennes (Rouge du Roc et Rouge de Bordeaux) et deux variétés récentes (R25 et R59) de blé utilisées en agriculture biologique ont été sélectionnés pour leur avance dans le développement phénologique des blés, puis laissé aller à maturité des graines. A la récolte, la viabilité des graines a été analysée avec le test au TTC (Chlorure de Triphenyl Tétrazolium) (TTC = accepteur des électrons fournis par la chaîne respiratoire des mitochondries) (Grabe, 1970). Les graines sont trempées dans l'eau pendant une nuit et ensuite coupées longitudinalement en deux parties ; l'embryon ainsi visualisé de profil est mis en contact avec 2 ml d'une solution de TTC à 0,25% préparé dans du tampon phosphate (50mM pH 7,4). La réaction est arrêtée en remplaçant la solution de TTC par de l'eau. Si l'embryon présente une activité métabolique il y a réduction du TTC, et formation du composé rouge TTC-formazan. Le degré de coloration est déterminé à l'aide d'une loupe binoculaire selon la grille de Grabe (1970) ; la coloration rouge indique la présence dans l'embryon d'une activité métabolique et son intensité le niveau de potentialité du grain à germer (plus la coloration est intense plus son potentiel est élevé) (Fig.22).

### Interprétation du test au Tétrazolium chez le blé

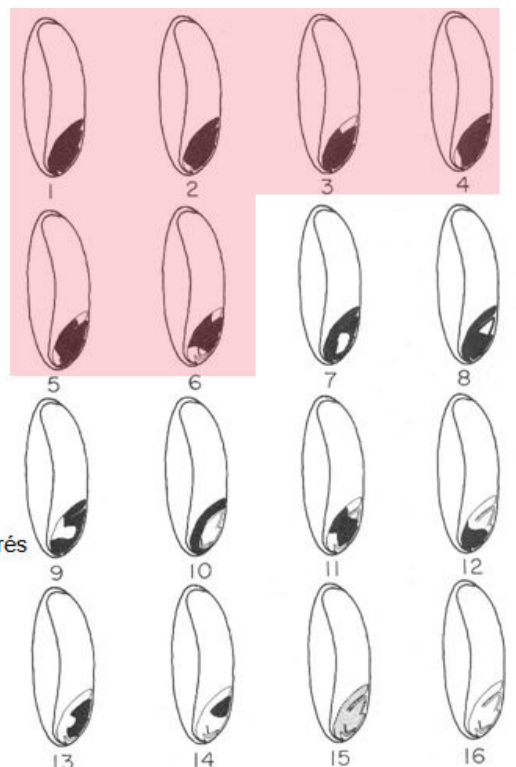
Parties noires = tissus vivants  
Parties blanches = non colorées ou mortes

#### Graines pouvant germer :

1. coloration de l'embryon en entier
- 2.-5. Extrémités du scutellum non colorées
6. Extrémités du scutellum, de l'apex de la radicule et le coléorhize non colorés

#### Graines ne pouvant pas germer :

7. Plus de  $\frac{3}{4}$  de la radicule non coloré
8. Plumule non colorée
9. portion centrale du scutellum non colorée
10. Axe embryonnaire non coloré
11. Extrémités du scutellum, de l'apex de la plumule non colorés
12. Moitié supérieure de l'embryon non colorée
13. Scutellum non coloré
14. Scutellum, radicule et coléorhize non colorés
15. Rosé
16. Pas de coloration



**Figure 22 :** Interprétation du test au Tétrazolium chez le blé (Grabe, D.F. 1970) Manuel d'essai pour les semences agricoles Tétrazolium. Contribution n ° 29 du Manuel sur les essais de semences, AOSA.

## 5 – Expérimentation en serre sur 10 variétés anciennes de blé

### 5.1 – Mise en place

Dix variétés ont été sélectionnées sur la base des résultats obtenus au champ (absence ou présence de mycorhization au tallage) et sur la base des résultats obtenus en serre sur la caractérisation de 8 variétés anciennes de blé et 8 variétés récentes de blé utilisées en agriculture biologique (travaux de Master) (Fig.23). L'ensemble des variétés a été cultivé en serre dans des pots en terre cuites contenant de la terre d'Epoisses mélangé avec du gravier stérilisé. Pour ce travail nous avons mis en place les traitements suivants : sol non désinfecté et non inoculé (T), sol non désinfecté et inoculé avec du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), sol désinfecté et non inoculé (TD) et sol désinfecté et inoculé avec du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi) (Fig.24). A chaque stade



phénologique de développement (Tallage, Epiaison et Maturité des épis), trois plantes par traitement ont été sélectionnées de manière aléatoire. Un échantillon représentatif du système racinaire de chaque plante à analyser est prélevé, lavé et coloré au bleu de trypan selon la méthode de Phillips et Hayman (1970), la notation a porté sur la fréquence (F%), l'intensité (M%) et le taux d'arbuscules (A%) des racines selon la méthode Trouvelot *et al.*, (1986).

		Critères de choix	Variété choisie
Champ	Mycorhization	Mycorhize très bien au tallage	21
		Pas de mycorhize au tallage	Poulard d'Australie
Travaux de Master	Rendement et Qualité	Effet mycorhizien sur le rendement (champignons MA: Gi)	Rouge de Bordeaux
		Effet mycorhizien sur le rendement et la qualité du grain (champignons MA: Gi)	Rouge du Roc
	Biomasses	Meilleur biomasses sur sol habituel de culture (Champignons MA indigènes) et sur sol d'Epoisses (champignons MA: Gi)	Rouge d'Alkirch
		Moins bonne biomasses sur sol habituel de culture (Champignons MA indigènes) et sur sol d'Epoisses (Champignons MA et Gi)	Blé de la Saône
		Meilleur biomasses sur sol d'Epoisses (Champignons MA indigènes)	Blanc de Lorraine
		Meilleur biomasses sur sol d'Epoisses (champignons MA: Gi)	Blé allemand
	Mycorhization	Meilleur taux de mycorhization sur le sol habituel de culture (Champignons MA indigènes) et sur le sol d'Epoisses (champignon MA:Gi)	Rouge d'Alsace
		Moins bon taux de mycorhization sur le sol habituel de culture (Champignons MA indigènes) et sur le sol d'Epoisses (champignons MA: Gi)	Alauda

**Figure 23 :** Critères de sélection de 10 variétés anciennes de blé en vue d'une culture pour évaluer leurs effets avec un inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup>.





**Figure 24 :** Culture en serre de 10 variétés anciennes de blé.

## **5.2 – Evaluation du taux de mycorhization**

A chaque stade phénologique de développement (Tallage, Epiaison et Maturité des épis), trois plantes par traitement ont été sélectionnées de manière aléatoire. Un échantillon représentatif du système racinaire de chaque plante à analyser est prélevé, lavé et coloré au bleu de trypan selon la méthode de Phillips et Hayman (1970), la notation a porté sur la fréquence (F%), l'intensité (M%) et le taux d'arbuscules (A%) des racines selon la méthode Trouvelot *et al.*, (1986).

### **5.3 – Evaluation de la biomasse**

Les biomasses fraîches aériennes et racinaires de dix variétés anciennes de blé ont été analysées à chaque stade phénologiques de développement (Tallage, Epiaison et Maturité des épis).

### **5.4 – Test de viabilité des graines**

La viabilité des graines des dix variétés anciennes de blé utilisées en agriculture a été analysée avec le test au TTC Chlorure de Triphenyl Tétrazolium (TTC = accepteur des électrons fournis par la chaîne respiratoire des mitochondries) selon la méthodes de Grabe (1970).

## **6 – Expérimentation au champ de 4 variétés anciennes de blé**

### **6.1 – Mise en place**

Sur la parcelle de 180 m<sup>2</sup>, 32 mini parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> ont été réalisées afin d'évaluer l'effet de la mycorhization au champ sur quatre des variétés de blé expérimentées en serre. Quatre variétés (Blé autrichien, Rouge du Roc, Blé de la Saône et Blanc de lorraine), ont été sélectionnées sur la base des résultats suivants : mycorhization au tallage, biomasses aérienne et biomasses racinaire au tallage, épiaison et maturité des épis (Fig.25). Chaque variété a été semée sur huit parcelles différentes, choisies de manière aléatoire afin d'avoir 4 répétitions par traitement (inoculées et non inoculées). Sur conseil de l'association Graines de Noé, les variétés ont été semées à la main à raison de 200 g de grains par mini parcelle, répartie sur 4 lignes (50 g par ligne). Les parcelles inoculées ont reçu 1,20 kg de SYMBIVIT<sup>®</sup> par parcelle, répartie sur 4 lignes (300 g/ligne). Les graines ont été semées le 14 novembre 2012, la moisson a eu lieu le 01 août 2013 (Fig.26). A la récolte, le rendement de chaque variété a été évalué pour chaque parcelle.



	Critères de choix	Variété choisie
Biomasses en serre	Effet mycorhizien sur la biomasses racinaire au tallage et biomasses aérienne à épiaison.	Blé autrichien
	Effet mycorhizien sur la biomasses aérienne et racinaire au tallage et à maturité des épis.	Rouge du Roc
	Moins bonne biomasses au tallage, épiaison et à maturité des épis	Blé de la Saône
Mycorhization	Meilleur taux de mycorhization avec l'inoculum commercial Symbivit	Blanc de Lorraine

**Figure 25 :** Critères de sélection des 4 variétés anciennes de blé en vue d’une culture pour la validation au champ de l’effet mycorhizien



**Figure 26 :** Culture au champ des 4 variétés anciennes de blé.

## **6.2 – Evaluation des rendements**

Les rendements en graines moyens de chaque variété en fonction des traitements ont été analysés après la récolte.

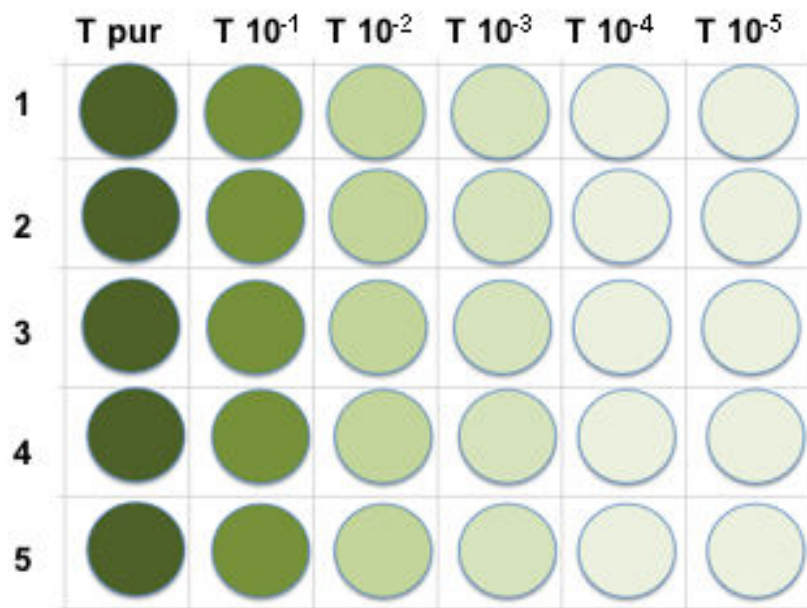
## **6.2 – Test de viabilité des graines**

Après récolte, la viabilité de 100 graines provenant de chaque parcelle, et choisies de manière aléatoire a été évalué avec le test TTC comme décrit précédemment. Ensuite, 100 autres graines également choisies de manière aléatoire ont été mises à germer dans une chambre froide à 4°C et le pourcentage de germination évalué relative aux parcelles inoculées et non inoculées.

## **7 – Test NPP (Nombre le Plus Probable) des sols.**

Le test dit NPP est utilisé afin de quantifier le pouvoir mycorhizogènes d'un sol. Le sol analysé provient des parcelles utilisées pour les expérimentations au champ, sol qui est stérilisé ou non par rayonnement gamma, avec les caractéristiques précédemment décrites. Les plantes hôtes : sont de jeunes plants pré-germés stériles de trèfle (*Trifolium repens*) ; les inocula de laboratoire contenant *R. irregularis* BEG140 ont été utilisés pour cette expérimentation.

La méthode consiste à faire cinq dilutions volumétriques successives de 10 en 10 du substrat naturel avec de la terre stérile (Fig.27). Chaque dilution est répétée cinq fois dans des pots de 50 g et un jeune plant de trèfle a été planté dans chaque pot. Et en fonction du nombre de plante mycorhizée de chaque série et à l'aide des tables d'Alexander et de COCHRAN nous parvenons à déterminer le nombre de propagules capables de générer la mycorhization dans le sol.



**Figure 27 :** Schéma de dilution successive d'analyse du pouvoir mycorhizogène

## 8 – Analyses statistiques

Toutes les données ont été analysées selon le test non paramétrique de comparaison de plusieurs échantillons de Kruskal-Wallis.

## **Chapitre 2 : Création d'une base de données de la collection de blés de l'association Graines de Noé**

# 1 – Introduction

Dans l'optique de mettre en place un outil d'aide à la sélection variétale, nous avons mis en place une base de données sur des variétés anciennes de blé avec la participation de l'association d'agriculteurs biologiques « Graines de Noé ». Cette base de données a pour objectif de répertorier l'important travail qui a été bâti par M. Bernard Ronot depuis plus de 10 ans afin de revaloriser les variétés anciennes délaissées depuis l'arrivée de l'agriculture intensive.

Nous avons référencé 225 variétés de la collection de Graines de Noé avec pour chacune d'elle toutes les observations faites depuis leur arrivée au sein de la collection. La base de données a été créée à l'aide du logiciel FileMaker Pro 12.0v5 (FileMaker, Inc. 5201 Patrick Henry Drive. Santa Clara, California 95054) et les informations obtenues auprès de M. Ronot. Cette base de données présente aujourd'hui, avec les dernières données récoltées que sont la mycorhization et les rendements de l'année 2013, une gamme d'informations assez importante pour chaque variété. Les différentes rubriques de cette base de données nous renseignent sur : nom de la variété, genre, espèce et autorité, date d'arrivée à la ferme, numéro d'identification à la ferme d'arrivée et de stockage, condition de conservation, pays et sol d'origine, descriptions du phénotype, caractéristiques physicochimiques du sol de culture d'origine, géolocalisation des parcelles de culture des variétés et de l'écosystème, le sol de culture, dates de campagne de cultures, dernière campagne de culture, observations morphologiques, séquence d'ADN, mycorhization, remarques diverses et *in fine* description des divers outils de récoltes de données (Fig.28).

## 2 – Importance de la base de données

Cette base de données a pour but de stocker les informations morphologiques, taxonomiques et écologiques, toutes les informations sur le travail bâti par M. Ronot mais aussi les données de mycorhization de chaque variété obtenues dans le cadre de cette thèse. Sa présence est par conséquent nécessaire au bon fonctionnement de l'association Graines de Noé qui pourra exécuter plus facilement et rapidement ses processus de travail grâce à cet outil pour archiver les données à traiter et les rendre accessibles à un grand nombre de

personnes. Elle se veut facile d'utilisation, et selon les critères de recherche dressera une liste de variétés sélectionnées en conséquence.

### 3 – Récolte des données

Les informations de cette base de données ont été récoltées (i) auprès des fiches de notation de M. Ronot basées sur les observations de plusieurs campagnes de culture de chacune de ces variétés, (i) une récolte de données au sein de la littérature existante et auprès d'autres collections (iii) et sur l'expérimentation en serre et au champ des variétés de blé effectuées dans cette thèse.

### 4 – Description des rubriques

#### 4.1 – Interface Informations

The image shows the 'Graines de Noé' database interface. The title bar is blue with the text 'Graines de Noé' in white. Below the title bar, there is a green tab labeled 'Informations'. The interface is divided into several sections with various input fields and dropdown menus, each numbered from 1 to 22. The fields include:

- 1**: N° BR (red box)
- 2**: N° Stock (green box)
- 3**: Arrivée Ferme Ronot (date field, 27/10/2001)
- 4**: Genre (Triticum)
- 5**: Espèce (aestivum)
- 6**: Nom du blé (AUTOMNE ROUGE BARBU)
- 7**: Autorité (variété locale)
- 8**: Sol Origine
- 9**: Descriptions (Blé tendre, Blé d'hiver, barbu, blé très précoce)
- 10**: Pays (France)
- 11**: Latitude
- 12**: Origine/Collecteur (Conservatoire de Clermont-Ferrand)
- 13**: Longitude
- 14**: Références (Catalogue des ressources génétiques des blés tendres et espèces apparentées)
- 15**: Sol de culture (Bonne terre (2003 à 2006 et 2010))
- 16**: Ecosystème
- 17**: Conservation
- 18**: Date dernière multiplication (27/10/2010)
- 19**: Multiplication au champ (list of dates)
- 20**: Analyses (27/10/2001 400 grains sémés, hauteur moyenne paille : 120cm, récolte 490 g/m2. 14/10/2002 27 grains sémés pieds levés au 13/12/02: 23 . Pieds au)
- 21**: Ség ADN
- 22**: Notes (18/10/2003. en place aux tilleuls. 27/10/2006. en place aux tilleuls se bat très bien. 03/11/2007. en place à la garenne parcelle aboutissant sur la serre, récolté le)
- 23**: Mise en place de la mycorhization
- 24**: Intensité de mycorhization

**Figure 28** : Image de l'interface Informations de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant chaque rubrique numérotée de 1 à 22.



Sur chaque fiche on peut retrouver les informations suivantes (cf. Figure 19 pour la correspondance des différents numéros)

**(1)** La rubrique « N°BR et N°Stock » apporte des renseignements respectivement sur le numéro de la variété dans la collection de « Graines de Noé » et le numéro de stockage dans le conservatoire mis en place par l'association au sein du Technopole AgrOnov (F-21110 Bretenières).

**(2)** La rubrique « Arrivée Ferme Ronot » montre la date d'arrivée de la variété à la ferme de M. Ronot qui représente également la date de première campagne de culture de la variété.

**(3)** La rubrique « Genre et Espèce » renseigne respectivement sur le genre et l'espèce de la variété.

**(4)** La rubrique « Nom du blé » apporte des renseignements sur le nom de la variété par exemple : Automne Rouge Barbu.

**(5)** La rubrique « Autorité » représente la propriété originale de la variété Sur l'exemple présenté nous avons rentré « variété locale » car la variété tellement ancienne n'est pas inscrite dans un catalogue.

**(6)** La rubrique « Sol Origine », présente toutes les informations concernant les sols habituel de culture de la variété avant son arrivée à la ferme.

**(7)** La rubrique « Description » présente les informations morphologiques et de précocité de germination de la variété.

**(8)** La rubrique « Isolat/culture » présente les caractéristiques physicochimiques du sol de culture.

**(9)** La rubrique « Pays » présente le pays d'origine de la variété.

**(10)** La rubrique « Latitude et Longitude », présente les informations de géolocalisation des parcelles de culture des variétés.

**(11)** La rubrique « Références », présente les outils utilisés pour la récolte des informations.

**(12)** La rubrique « Origine/Collecteur » renseigne sur la provenance de la variété et la personne l'ayant récoltée.

**(13)** La rubrique « Ecosystème », présente toutes les informations concernant l'environnement connu de la variété avant son arrivée à la ferme.

**(14)** La rubrique « Conservation », présente les informations sur des conditions de conservation de la variété.

**(15)** La rubrique « Sol de culture », renseigne sur la qualité du sol de culture (telle qu'elle a été décrite par M. Ronot) de chaque campagne : nous avons rentré « bonne terre » (de 2003 à 2006 et en 2010).

**(16)** La rubrique « Date de dernière multiplication », présente la date de dernière campagne de multiplication de la variété de blé .

**(17)** La rubrique « Multiplication au champ » renseigne sur toutes les dates de campagnes de multiplication des graines de chaque variété depuis son arrivée à la collection : 27/10/2001 date de première campagne et 27/10/2010 sa date de dernière campagne de la variété.

**(18)** La rubrique « Analyses » renseigne sur toutes les observation morphologiques, phénologiques, d'adaptation...lors de chaque campagne de multiplication des graines depuis l'arrivée à la collection pour chaque variété.

**(19)** La rubrique « Notes », présente toutes les informations et autres remarques d'intérêt ne concernant pas les précédentes rubriques.

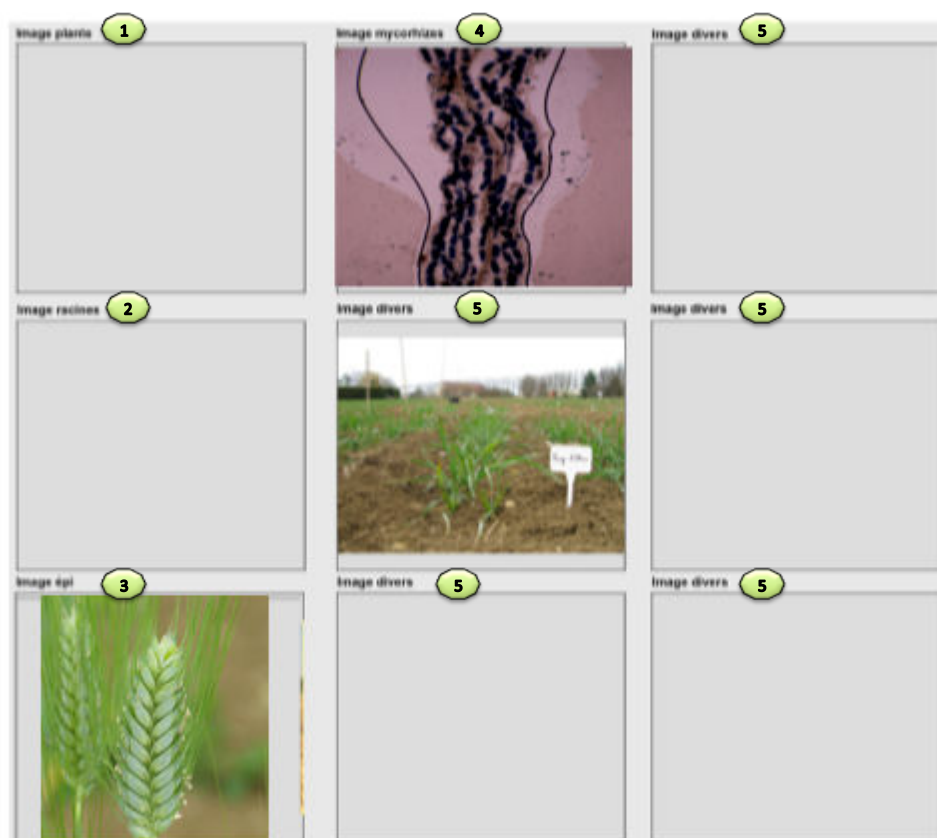
**(20)** La rubrique « Séq ADN », présente les informations importantes sur les séquences d'ADN connues et utilisables pour l'identification de la variété.

(21) La rubrique « Mise en place de la mycorhization », présente les informations récoltées au cours de cette thèse sur la précocité de mise en place de la symbiose de chaque variété.

(22) La rubrique « Intensité de mycorhization », présente les données numériques récoltées au cours de cette thèse relatives à l'estimation de l'intensité de la symbiose pour chaque variété.

## 4.2 – Interface Images

Sur chaque fiche on peut retrouver les informations suivantes (cf. Figure 29 pour la correspondance des différents numéros)



**Figure 29** : Image de l'interface Images de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant chaque rubrique numérotée de 1 à 5.

(1) La rubrique « Image plante », présente des photographies (réalisées au cours de la thèse) de la plante dans son ensemble et/ou au champ

(2) La rubrique « Image racine », présente des photographies (réalisées au cours de la thèse) du système racinaire

(3) La rubrique « Image épis », présente les images réalisées au cours de la thèse des épis de la variété.

(4) La rubrique « Image mycorhize », présente les images de mycorhization des variétés, comme par exemple ici une image d'un fragment de racine colonisé par un champignon mycorhizogène.

(5) Les rubriques « Image diverses », présente différentes images de la variété, comme par exemple ici l'image de la variété au stade phénologique Tallage.

### **4.3 – Interface Documents**

La rubrique « Documents», présente les documents apportant les informations complémentaires sur la variété, comme par exemple ce document de l'Agropolis Museum dans lequel figurent des informations importantes pour la variété concernée (Fig.30).



**Figure 30 :** Image de l'interface Documents de la base de données des blés de la collection de Graines de Noé présentant la rubrique Documents.

## 5 – Fonctionnement

La base range les données au sein d'un système de classement particulier, qui est un mode de structuration conçu pour faciliter la lecture des informations, des images et des documents de chaque variété. Concrètement, les informations sont réparties au sein de dossiers appelés interfaces, chacun d'eux renvoyant à un domaine de données (numéro d'identification à la ferme et de stockage, date d'arrivée à la ferme, genre, espèce et type de blé, autorité, sol d'origine, descriptions du phénotype, Pays d'origine, sol de culture, dates de cultures, remarques divers, images (racine, plantes entière, épis...). L'affichage en liste disponible offre à l'utilisateur un classement selon les critères de recherche. Au final, elle garantit la pertinence des réponses apportées par le système, mais également sa rapidité de réaction à une demande, une structure de données simple et claire étant gage de performance. Elle garantit également un archivage numérique de l'ensemble des informations collectées

respectivement par M. Ronot, l'association Graines de Noé et moi-même au cours de cette thèse

## **6 – Conclusion**

L'outil de référencement variétal mis en place, présente désormais l'important travail qui a été bâti par M. Bernard RONOT depuis plus de 10 ans afin de revaloriser les variétés anciennes laissées à l'abandon depuis l'arrivée de l'agriculture intensive. Deux cent vingt cinq variétés de la collection de Graines de Noé ont été référencées. Il présente aujourd'hui avec les dernières données récoltées, c'est à dire la mycorhization et les rendements de l'année 2013, une gamme d'informations assez large pour chaque variété de la collection. La base de données est importante dans la mesure où elle est désormais capable avec ses trois interfaces (Information, images et Documents) de renseigner rapidement pour toutes les variétés inscrites les informations morphologiques, taxonomiques et écologiques

# **Chapitre 3 : Evaluation des variétés de blé de la collection de Graines de Noé pour leur aptitude à former des mycorhizes au champ**

# **1 – Introduction**

Cent vingt parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> ont été mises en place sur le site du Technopole AgrOnov (F-21110 Bretenières) dans un champ préalablement cultivé, transformé en prairie depuis 8 ans, pour accueillir 120 variétés de la collection de Graines de Noé afin de renouveler le stock de semences de ces variétés et/ou d'obtenir des informations sur la culture de celles ci. Cet emplacement a été sélectionné afin d'éviter au maximum tout impact éventuel d'un antécédent cultural sur la mycorhization des différentes variétés de blé. Parmi les 120 variétés semées, 53 variétés sélectionnées pour leurs intérêts en agriculture biologique par les membres de l'association de Graines de Noé, ont été analysées pour leur aptitude à former des mycorhizes (présence/absence) à trois stades phénologiques différents : au Tallage (après 20 semaines de culture environ), à l'épiaison (après 30 semaines de culture environ) et à maturité des épis (après 39 semaines de culture environ) avec la population de champignons mycorhizogènes à arbuscules (CMA) présents dans le sol (Fig.31).

Le 04/03/2011, au stade phénologique Tallage, le 11/05/2011, au stade phénologique Epiaison et le 10/07/2011, au stade phénologique de maturité des épis, 3 plantes de chaque variété ont été prélevés et nous y avons fait les analyses de mycorhization qui consistent à évaluer sur l'ensemble du système racinaire de chaque échantillon la présence ou non de la symbiose (cf Matériel et méthodes).

Par la suite, trois espèces (Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain) représentatives de l'ensemble des résultats obtenus ont été sélectionnées pour quantifier plus précisément la mycorhization (la fréquence, l'intensité et le taux d'arbuscules) à chaque stade phénologique de développement.

## **2 – Evaluation de la mycorhization**

### **2.1 – Au Tallage**

A ce stade phénologique de développement, seulement 5 variétés avaient leurs trois échantillons mycorhizés, 10 présentaient 2 échantillons sur 3 mycorhizés, 21 avaient 1 échantillon sur 3 mycorhizé et 17 n'avaient pas d'échantillon mycorhizé (Fig.31). A ce stade,



les fréquences de mycorhization (F%) étaient de 73,33%, 33,33% et 58,34% respectivement pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui équivaut à une fréquence moyenne de : 55,55% ; les intensités de mycorhization étaient respectivement de 8,1%, 0,73% et 12,62% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui donne une intensité de mycorhization (M%) moyenne de : 7,15%. Les taux d'arbuscules de ces variétés étaient respectivement de 4,8%, 0,1% et 9,69% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain et leur taux d'arbuscule (A%) moyen à ce stade est de 4,84% (Fig.32).

## **2.2 – A l'Épiaison**

Ce stade phénologique de développement, montre que pour toutes les variétés tous les échantillons sont mycorhizés (Fig.31). Les fréquences de mycorhization (F%) étaient de 66,63%, 96,67% et 90% respectivement pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui équivaut à une fréquence moyenne de : 84,44% ; les intensités de mycorhization étaient respectivement de 21,86%, 18,4% et 36,87% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui donne une intensité de mycorhization (M%) moyenne de : 25,71%. Les taux d'arbuscules de ces variétés étaient respectivement de 12,85%, 10,29% et 27,83% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain et leur taux d'arbuscule (A%) moyen à ce stade est de 16,99% (Fig.32).

## **2.3 – A maturité des épis**

Nous avons à ce stade phénologique de développement, 34 variétés avec 3 échantillons sur 3 mycorhizés et 19 variétés avec 2 échantillons sur 3 mycorhizés (Fig.31). Les fréquences de mycorhization (F%) étaient de 80%, 76,44% et 69,81% respectivement pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui équivaut à une fréquence moyenne de : 75,55% ; les intensités de mycorhization étaient respectivement de 22,27%, 15,66% et 12,51% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain. Ce qui donne une intensité de mycorhization (M%) moyenne de : 16,81%. Les taux d'arbuscules de ces variétés étaient respectivement de 12,17%, 6,62% et 4,85% pour Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain et leur taux d'arbuscule (A%) moyen à ce stade est de 7,88% (Fig.32).

Variétés	Echantillons								
	Tallage			Epiaison			Maturité des épis		
Touzelle									
<b>Rouge du Roc</b>									
Rouge d'Alsace									
Rouge d'alkirch									
RLGK									
Renan									
Redon									
Prince Albert									
Poulard de Beauce									
Poulard d'Australie									
Petit rouge du morvan									
Nonette de Losane									
Noe									
Mottin									
korazan									
Jejar espagnol									
James									
Huabey									
Haut brionnais mutique									
Goldendrop									
Engrain Noir									
Engrain allmand									
Engrain									
Emmer Noir									
Dattel									
Concorde									
Chiddam d'automne									
Capelli									
Blé pharaon									
Blé du Morvan									
Blé du Maroc									
Blé du Jura									
Blé des Vosges									
<b>Blé de la Saône</b>									
<b>Blé autrichien</b>									
<b>Blanc de Lorraine</b>									
Barbu du Maconnais									
Automne rouge									
Atar									
Amidonnier blanc									
Alauda									
93									
80									
48									
46									
42									
37									
21									
16									
14									
8									
7									
5									

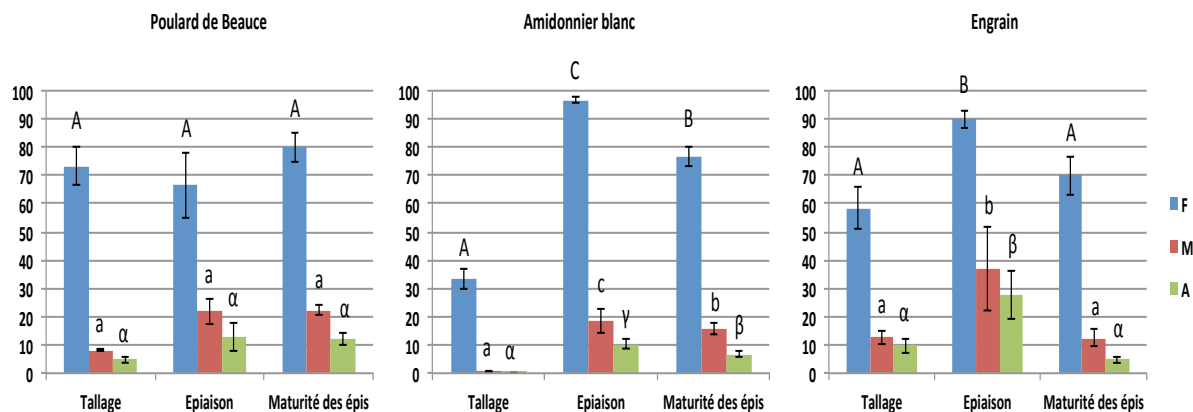


Echantillon non mycorhizé



Echantillon mycorhizé

**Figure 31 :** Variation de l'aptitude à mycorhizer au champ de 53 variétés anciennes de blé selon le stade phénologique du développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis). Chaque colonne représente une plante échantillonnée. Selon la variété on observe des cinétiques différentes de mise en place de la mycorhization.



**Figure 32 :** Evolution de la mycorhization au champ de trois variétés anciennes de blé à trois stades phénologiques de développement (Tallage, Epiaison et Maturité des épis). F : fréquence de mycorhization, M : intensité de mycorhization et A : taux d'arbuscules.

### 3 – Evolution de la symbiose durant le développement du blé

Pour cette partie, nous avons comparé les différents paramètres de mycorhization : fréquence (F%), intensité (M%) et taux d'arbuscule (A%) à différents stades de développement : tallage, épiaison et à maturité des épis chez 3 variétés de blé les plus représentative de l'ensemble des résultats et d'espèces de blés utilisés (Poulard de Beauce, Amidonnier Blanc et Engrain). La variété Poulard de Beauce présente une fréquence de mycorhization (F%) de 73,3% au Tallage, elle est de 66,6% à l'épiaison et est désormais de 80% à maturité des épis. L'intensité de mycorhization est de 8,1% au Tallage, 21,9% à l'Epiaison et 22,3% à Maturité des épis. Les taux d'arbuscules de cette variété sont de 1,8% au Tallage, 12,8% à l'Epiaison et 12,2% à maturité des épis. Chez La variété Amidonnier Blanc, nous avons des fréquences de mycorhization (F%) de 33,3% au Tallage, elle est de 96,7% à l'épiaison et est désormais de 76,4% à maturité des épis. L'intensité de mycorhization est de 0,7% au Tallage, 18,4% à l'Epiaison et 15,66% à Maturité des épis. Les taux d'arbuscules de cette variété sont de 0,1% au Tallage, 10,3% à l'Epiaison et 6,6% à maturité des épis. Pour La variété Engrain, les fréquences de mycorhization (F%) sont de 58,3% au Tallage, elle est de 90% à l'épiaison et est désormais de 69,8% à maturité des épis.

L'intensité de mycorhization est de 12,62% au Tallage, 36,9% à l'Épiaison et 12,5% à Maturité des épis. Les taux d'arbuscules de cette variété sont de 9,7% au Tallage, 27,8% à l'Épiaison et 4,8% à maturité des épis. Deux des trois variétés analysées (Amidonnier blanc et Engrain) atteignent leur pic de fréquence, d'intensité de mycorhization et du taux d'arbuscules de à épiaison.

## **4- Conclusion**

Le criblage de 53 variétés anciennes de blé utilisées en agriculture biologique a révélé l'existence d'une variabilité dans leur aptitude à former des mycorhizes avec les CMA naturellement présents dans un champ transformé en prairie depuis 8 ans. La présente étude étendue des variétés anciennes du blé montre clairement que cet effet variétal dépend cependant du stade du développement végétal. Il était particulièrement important en début de végétation au stade tallage où l'ensemble des plantes analysées étaient mycorhizées seulement pour 5 variétés, alors qu'à ce même stade 17 variétés n'étaient pas encore mycorhizées et les autres 21 variétés montraient des valeurs intermédiaires de mycorhization. Toutes ces différences s'estompent au stade Épiaison, quand toutes les plantes sont mycorhizées pour chaque variété, puis réapparaissent pour 19 variétés au stade Maturité des épis.

D'une manière générale, les taux de mycorhization confirment les observations faites sur la mise place de la symbiose. En effet, les pics de mycorhization sont atteints lors de la mise en place des épis (stade phénologique Épiaison).

# **Chapitre 4 : Impact de la mycorhization sur le développement du blé et la qualité du grain**

# 1- Introduction

Au vu de l'intérêt du blé et des mycorhizes dans la réduction des intrants chimiques de synthèse, cette partie de travail a consisté à cultiver en serre dans un premier temps huit variétés anciennes notamment des variétés de Pays de la collection privée de M. Bernard Ronot (agriculteur à Chezeuil, Bourgogne) et huit variétés récentes de blé utilisées en culture biologique (Fig.33). Ainsi, ces variétés ont été cultivées dans des pots en terre cuite en serre soit avec le sol habituel de culture prélevé au champ (sol de Chazeuil, Côte d'Or ou sol de Fenay, Côte d'Or) non stérilisé et inoculé en CMA ou avec un sol couramment utilisé pour l'étude des mycorhizes (« sol d'Epoisses » pauvre en P prélevé sur le domaine Epoisses de l'INRA Dijon à Bretenières).

Ont été évalués d'une part, le taux de mycorhization et la biomasse produite pour les huit variétés anciennes sur leur sol habituel de culture (sol de Chazeuil) ; Et d'autre part, le taux de mycorhization et la biomasse produite, de six des huit variétés anciennes de blé sur le sol d'Epoisses. Pour les deux variétés anciennes restantes, qui ont été cultivées jusqu'à maturité, le rendement et la viabilité des graines ont été évalués après culture sur sol d'Epoisses (Fig.33).

Ensuite, huit variétés récentes utilisées en culture biologique ont fait l'objet d'une analyse de taux de mycorhization et de biomasse produite sur leur sol habituel de culture (sol de Fenay) d'une part. Et de l'autre, le taux de mycorhization et la biomasse produite, de six des huit variétés récentes de blé utilisées en agriculture biologique sur le sol d'Epoisses. Pour les deux variétés récentes restantes, qui ont été cultivées jusqu'à maturité, il a été évalué le rendement et la viabilité des grains produite sur sol d'Epoisses (Fig.33).

En parallèle, nous avons comparé la réponse des variétés anciennes à celle des variétés de blé récentes utilisées en production biologique à l'inoculation avec des CMA. Sur la base des résultats obtenus sur le précédant travail (Chapitre 3), Nous avons sélectionné dix variétés anciennes de blé cultivées en serre dans des pots en terre cuite de 1,2 litres contenant de la terre provenant du champ ayant servi au criblage des 53 variétés de blé. Pour chaque variété, deux traitements (inoculés ou non avec du SYMBIVIT<sup>®</sup>) ont été réalisés. Il a été évalué le taux de mycorhization de ces variétés, l'évolution de la symbiose durant le développement

des blés, les biomasses produites, le rendement en graines et la viabilité des graines produites (Fig.33).

Afin de valider les effets mycorhiziens observés en serre, une sélection de quatre variétés a été cultivée sur une parcelle de 180 m<sup>2</sup> d'un champ expérimental du Technopôle AgrOnov (F-2110 Bretenières) préparée pour accueillir une expérimentation de mycorhization au champ (Cf. Matériel et méthodes). Le rendement en graines par parcelle, la viabilité des graines et le taux de phosphore des graines a été mesuré (Fig.33).

Le but de ce travail était de vérifier s'il existe un effet variétal chez le blé aussi bien au niveau de sa capacité à mycorhizer, que de son aptitude à tirer d'éventuels bénéfices des mycorhizes, d'une part avec un inoculum de laboratoire et de l'autre avec un inoculum commercial et par conséquent de jeter la base d'un travail de sélection de variétés de blé mycorhizotrophes.

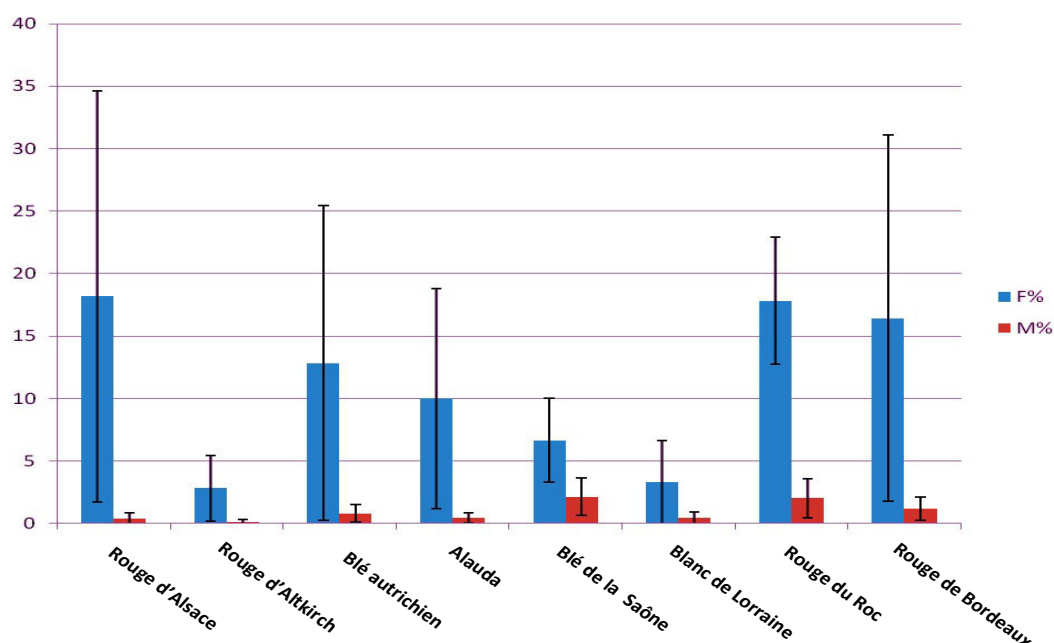
Variétés	Conditions expérimentales											
	En serre sur sol de Chazeuil		En serre sur sol de Fenay		En serre sur sol d'Epoisses				Au champ sur sol d'Epoisses			
	Mycorization	Biomasse	Mycorization	Biomasse	Mycorization	Biomasse	Rendement	TTC	Mycorization	Rendement	TTC	Taux de Phosphore
Blanc de Lorraine												
Blé de la Saône												
Blé autrichien												
Rouge du Roc												
Alauda												
Rouge d'Alsace												
Rouge d'Altkirch												
Rouge de Bordeaux												
Poulard d'Australie												
21												
R1												
R5												
R18												
R49												
R59												
R33												
R25												
R10												

**Figure 33 :** Tableau synthétique des différentes expérimentations et variétés utilisés.

## 2 – Mycorhization de 8 variétés anciennes et de 8 variétés récentes utilisées en culture biologique de blé et impact sur les biomasses et la qualité du grain en serre

### 2.1 – Taux de mycorhization de 8 variétés anciennes sur le sol de Chazeuil

Les 8 variétés anciennes de blé ont toutes formé des mycorhizes avec la population indigène de CMA présente dans leur sol habituel de culture. Elles ont présenté des taux de mycorhization différents après 6 semaines de culture. La fréquence de mycorhization (F%) varie de 2,7% pour la variété rouge d'Altkirch à 18% chez la variété Rouge d'Alsace (Fig.34). L'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 0,3% pour la variété Rouge d'Altkirch et 2,3% pour la variété Blé de la Saône. Toutes ces variétés ont présenté des taux de mycorhization tellement hétérogènes au sein d'une même variété que nous n'avons pas pu observer d'effet variétal sur la mycorhization de ces variétés sur leur sol de culture habituel (Fig.34).

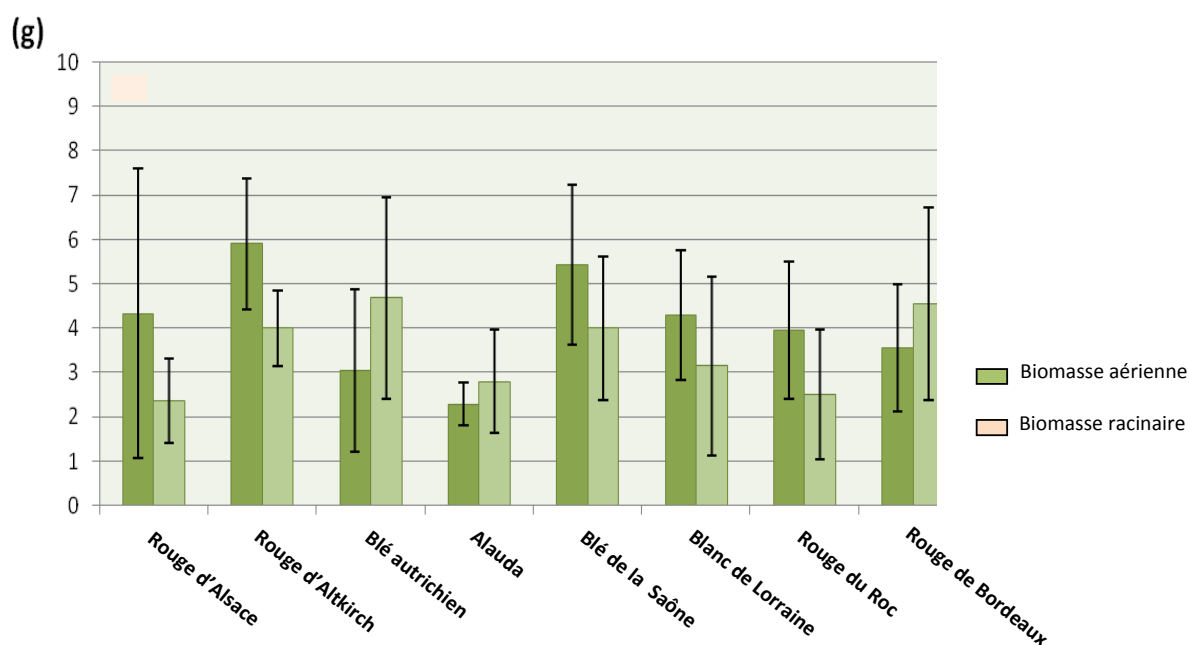


**Figure 34 :** Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 8 variétés anciennes de blés après 6 semaines de cultures sur le sol d'origine.



## 2.2 – Biomasse de 8 variétés anciennes sur le sol de Chazeuil

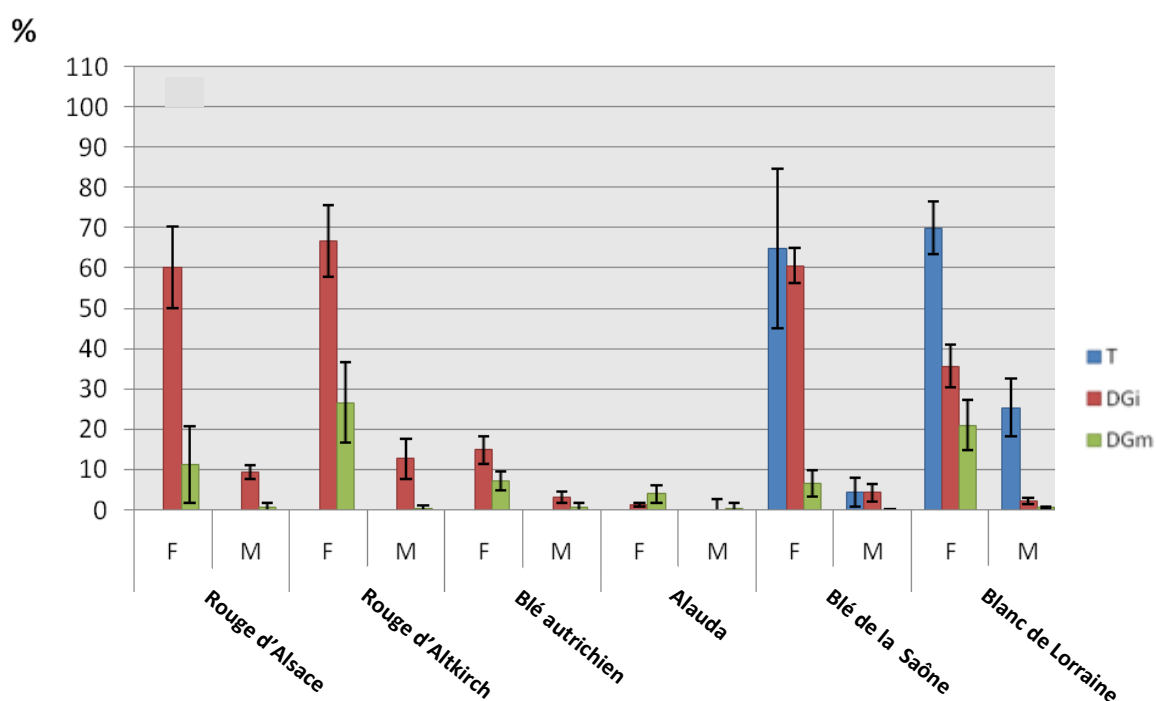
Les biomasses aériennes des huit variétés anciennes de blé varient de 5,9g pour la variété rouge d’Altkirch à 2,2g chez la variété Rouge d’Alauda ; les biomasses racinaires oscillent entre 4,8g pour la variété Blé autrichien et 2,5g pour la variété Rouge du Roc (Fig.35). Les mêmes observations sur l’hétérogénéité au sein d’une même variété sont faites sur les biomasses de ces variétés. Pour ce paramètre, il n’a donc pas été observé un effet variétal. De plus, aucune corrélation entre les taux de mycorhization et quantité de biomasses produite n’a été observée tant au niveau des biomasses aériennes que racinaires.



**Figure 35 :** Biomasses fraîches des huit variétés anciennes de blés après 6 semaines de culture en serre sur sol d’origine.

## 2.3 – Taux de mycorhization de 6 variétés anciennes sur le sol d’Epoisses

Sur le sol d'Epoisses, seulement deux variétés sont mycorhizées avec la population indigènes de CMA (témoin non désinfecté) présente dans le sol (Blé de la Saône et Blanc de Lorraine) (Fig.36). Chez les variétés anciennes de blé, seulement 3 présentent des fréquences de mycorhization (F%) supérieures ou égales à 60%, l'intensité de mycorhization oscille entre 9,8% pour Rouge d'Alsace et 0,3% pour la variété Alauda lorsqu'elles sont inoculés avec *R. irregularis* (Fig.36). L'inoculation avec *F. mosseae* permet d'avoir des fréquences de mycorhization toutes inférieures à 30% ; alors les valeurs d'intensité de mycorhization oscillent désormais entre 0,66% pour la variété Rouge d'Alsace et 0,23% pour la variété Blé de la Saône (Fig.36).

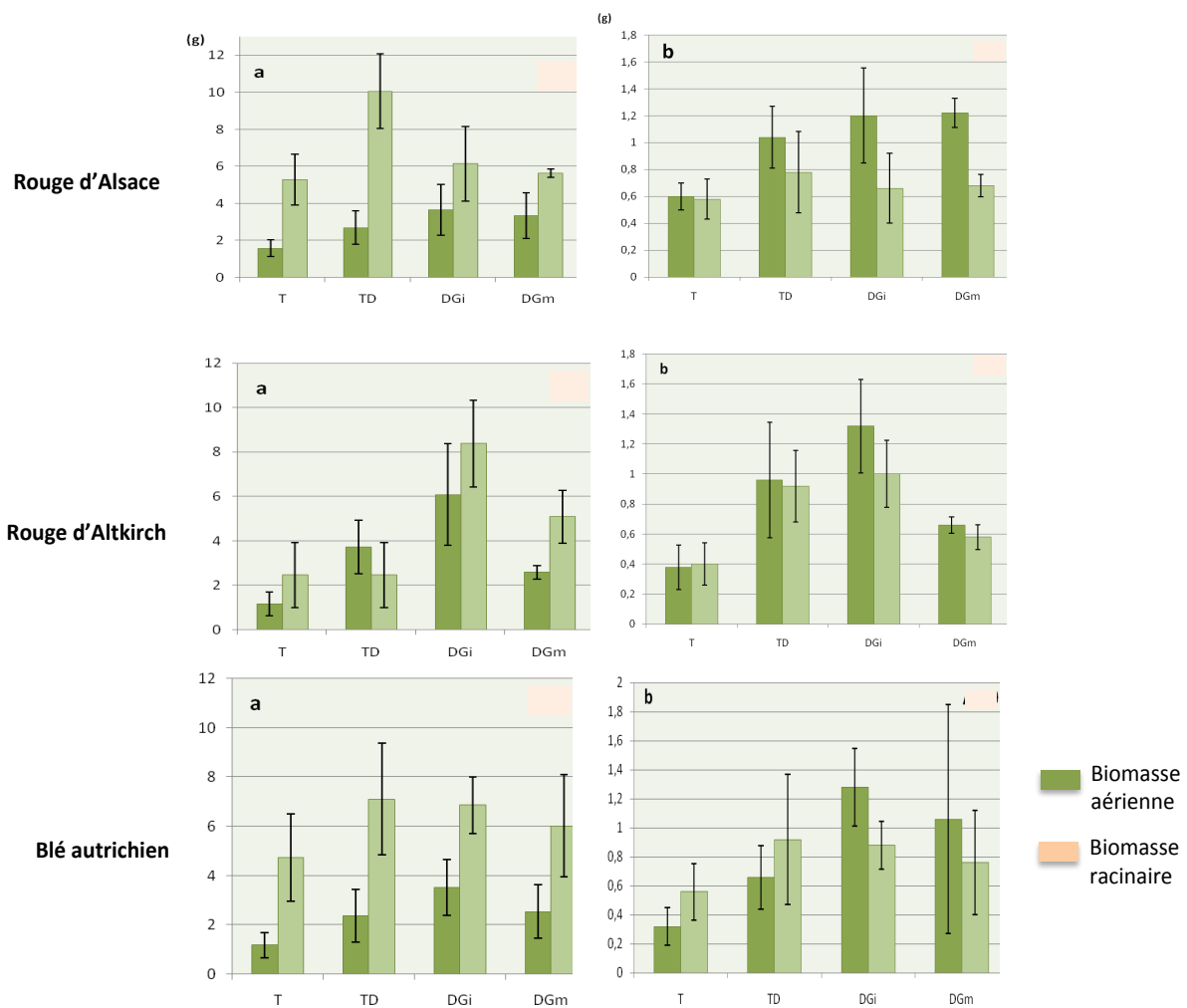


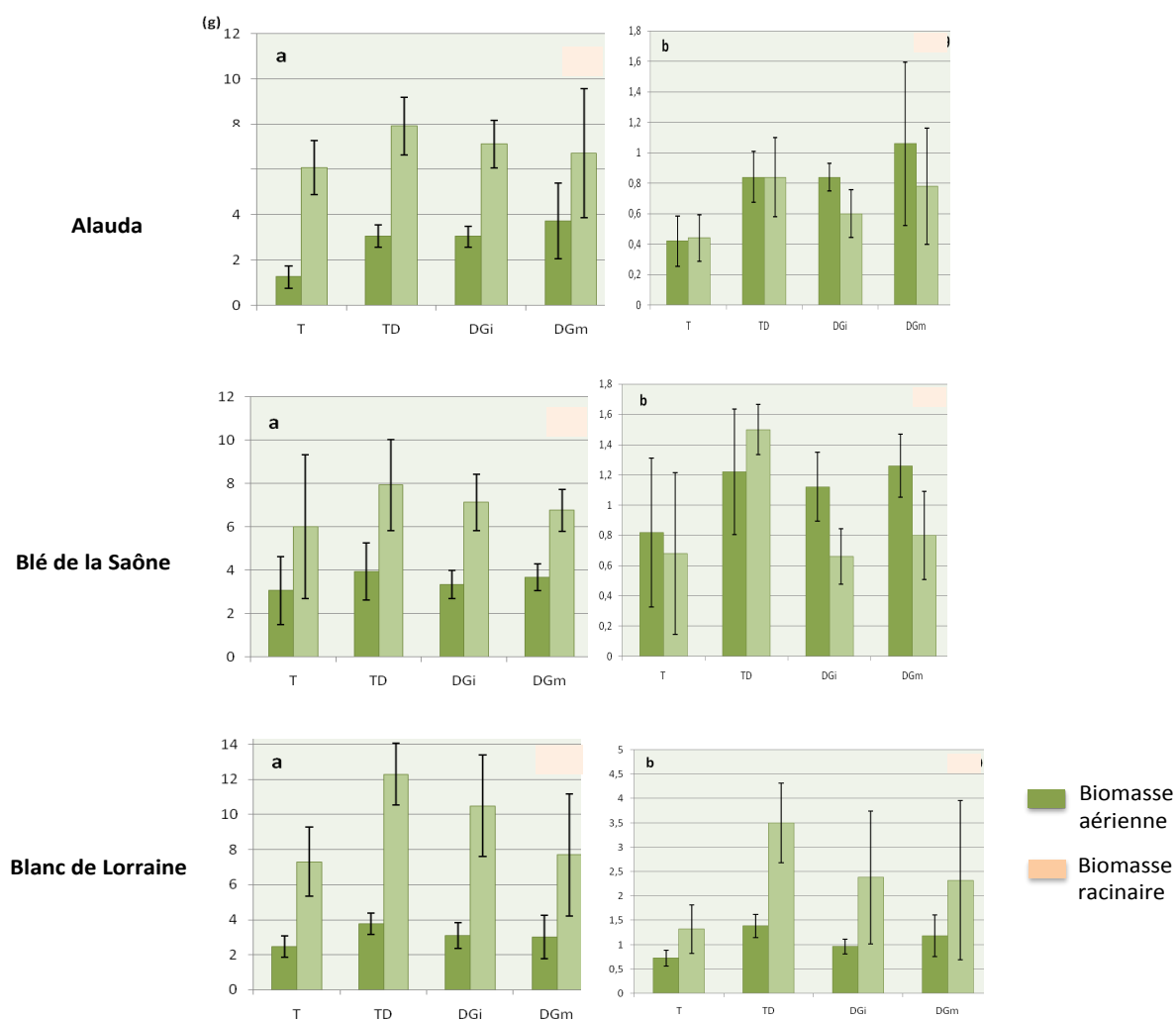
**Figure 36 :** Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 6 variétés anciennes de blé après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses; DGi : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *Funneliformis mosseae*.

## 2.4 – Biomasse de 6 variétés anciennes sur le sol d'Epoisses

D'une manière générale la désinfection du sol (TD) améliore la croissance des plantes : la biomasse aérienne est augmentée sensiblement chez les variétés Rouge d'Alsace (matière sèche), Rouge d'Altkirch (matière fraîche et sèche), Blé autrichien (matière sèche), Alauda (matière fraîche et sèche) et Blanc de Lorraine (matière fraîche et sèche) (Fig.37).

Cette stimulation est sensiblement accentuée par la mycorhization avec *R. irregularis* (DGi), et non avec *F. mosseae* (DGm), notamment chez la variété Rouge d'Altkirch (matière sèche). Cette augmentation est de 300 %. La désinfection du sol augmente aussi sensiblement la biomasse racinaire des variétés Rouge d'Alsace (matière fraîche), Rouge d'Altkirch, Alauda et Blé de la Saône (matière sèche) et Blanc de Lorraine (matière fraîche et sèche). Cette augmentation est accentuée (240.65 %) par la mycorhization avec *R. irregularis* (DGi) et non avec *F. mosseae* (DGm) chez la variété Rouge d'Altkirch (Fig.37). L'effet stimulant de la désinfection sur la biomasse semble traduire la présence dans le sol non désinfecté de microorganismes néfastes à la croissance du blé.



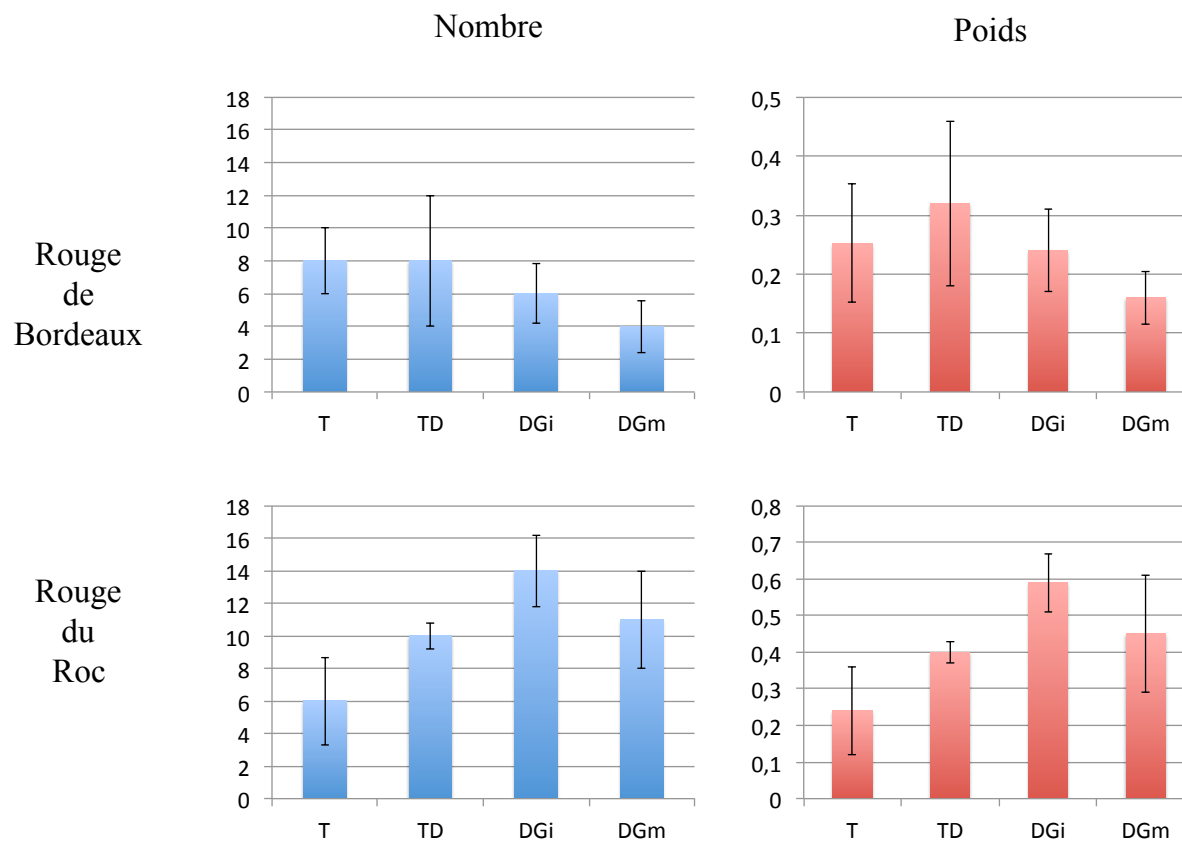


**Figure 37 :** Biomasses fraîches (a) et sèches (b) de six variétés anciennes de blés après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses. T : sol non désinfecté; TD : sol désinfecté ; DGi : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *Funneliformis mosseae*.

## 2.5 – Rendement en graines de 2 variétés anciennes de blé

Le rendement en grains n'a été évalué que pour deux variétés anciennes (Rouge du Roc et Rouge de Bordeaux). La figures 38 montre les variations, selon les traitements, du nombre de graines produites et leurs masses par plante : pour Rouge du Roc, la désinfection du sol (TD) améliore sensiblement le nombre et cette stimulation est accentuée par l'inoculation a de *R. irregularis* (DGi), et non avec *F. mosseae* (DGm). Pour la variété Rouge

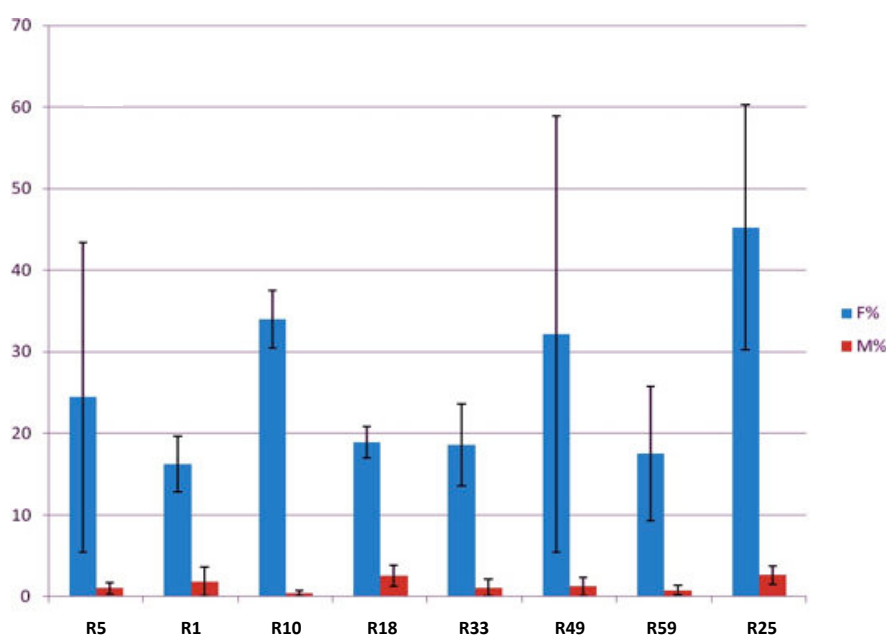
de Bordeaux, ni la désinfection, ni l'inoculation n'améliorent ces paramètres (Fig.38). En ce qui concerne les variations du poids des grains, d'une manière générale elles reflètent celles du nombre des grains.



**Figure 38** : Nombre et poids des graines par plante de deux variétés anciennes de blés (Rouge du Roc, et Rouge de Bordeaux). T : témoin ; TD : témoin sur sol désinfecté ; DGi : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *Funneliformis mosseae*.

## 2.6 – Taux de mycorhization de 8 variétés récentes sur le sol de Fenay

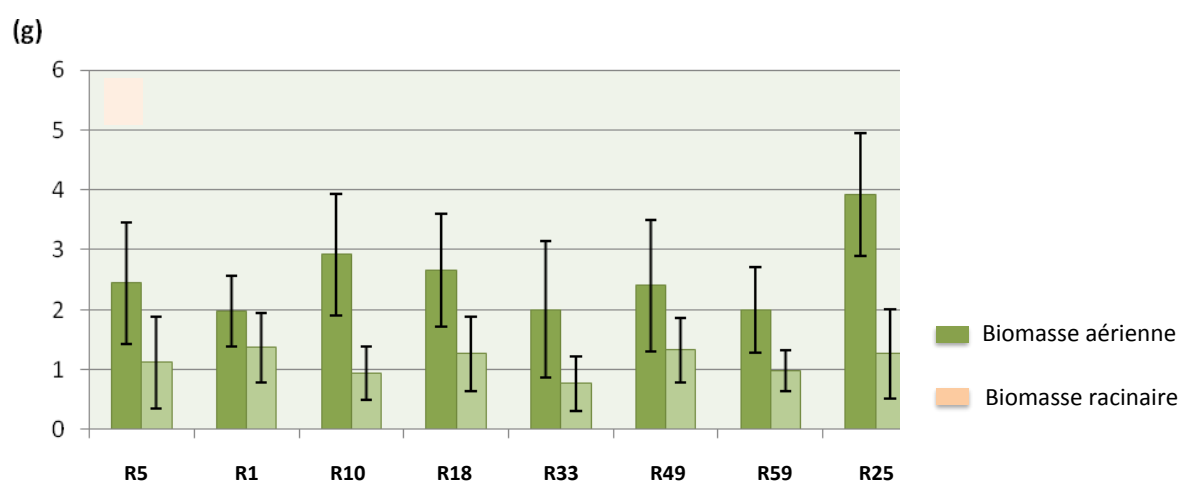
Les 8 variétés récentes de blé cultivées en culture biologique ont toutes formé des mycorhizes avec la population indigène de CMA présents dans leur sol habituel de culture. Elles ont présenté des taux de mycorhization différents après 6 semaines de culture. La fréquence de mycorhization (F%) varie de 55% pour la variété R25 à 16,5% chez la variété R1. L'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 3% pour la variété R25 et 1,3% pour la variété R10 (Fig.39). Toutes ces variétés ont une fois de plus présenté des taux de mycorhization hétérogènes au sein d'une même variété ; ainsi un éventuel effet variétal sur la mycorhization de ces variétés sur leur sol de culture habituel n'a pas pu être observé.



**Figure 39 :** Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 8 variétés récentes de blés cultivées en culture biologique après 6 semaines de culture sur le sol d'origine.

## 2.7 – Biomasse de 8 variétés récentes sur le sol de Fenay

Les biomasses aériennes des huit variétés récentes de blé cultivées en agriculture biologique varient de 3,9g pour la variété R25 à 2g chez les variétés R1, R33 et R59. Les biomasses racinaires oscillent entre 1,3g pour les variétés R1et R49 et 0,8g pour la variété R33 (Fig.40). Ici aussi se dégage une importante hétérogénéité au sein d'une même variété. Ainsi, il ne se dégage pas un effet variétal pour les biomasses de ces variétés. Une fois de plus, nous n'avons pas pu établir une corrélation entre les taux de mycorhization et quantité de biomasses produite tant au niveau biomasse aérienne que racinaire.



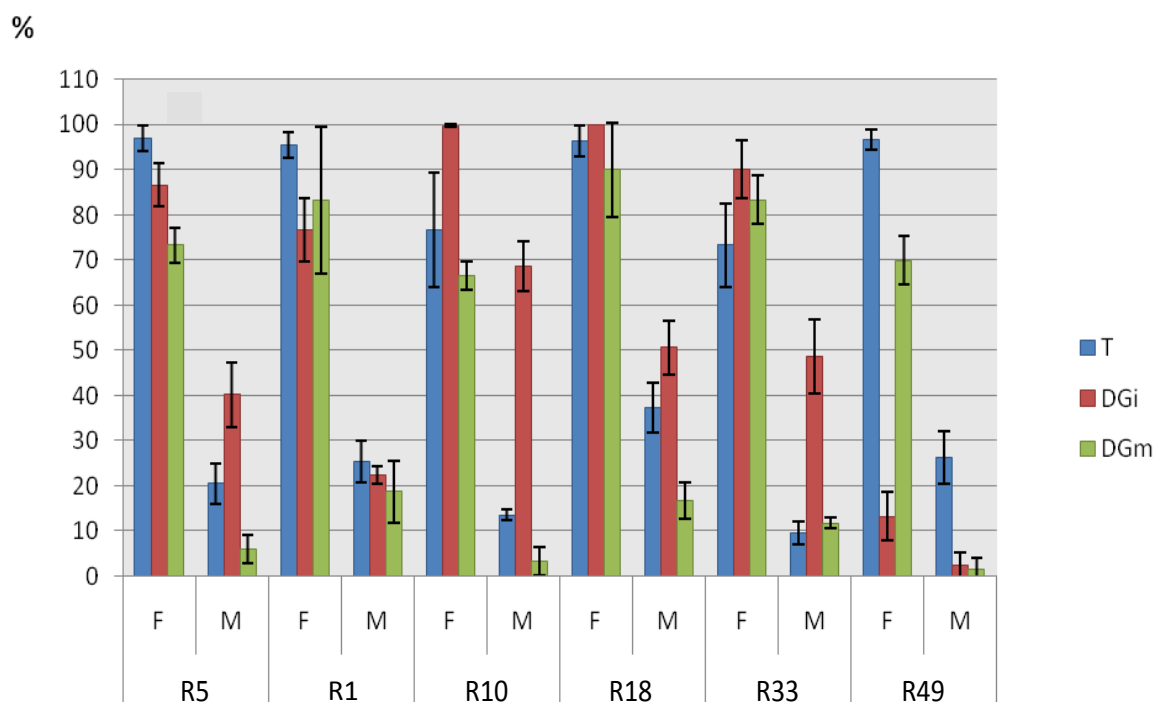
**Figure 40** : Biomasses fraîches des huit variétés récentes de blés cultivées en agriculture biologique après 6 semaines de culture en serre sur sol d'origine.

## 2.8 – Taux de mycorhization de 6 variétés récentes sur le sol d'Epoisses

Sur le sol d'Epoisses, toutes les variétés se sont mycorhizées avec la population indigène de CMA présente dans le sol. Chez les variétés récentes, à l'exception de la variété R49 avec *R. irregularis*, toutes les variétés de blé présentent des fréquences de mycorhization (F%) supérieures ou égales à 60%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 69% pour



la variété R10 et 3% pour la variété R49 lorsqu'elles sont inoculées avec *R. irregularis*. L'inoculation avec *F.mosseae* permet d'avoir des fréquences de mycorhization toutes supérieures à 30% ; alors que les valeurs de l'intensité sont toutes inférieures à 20% (Fig.41).



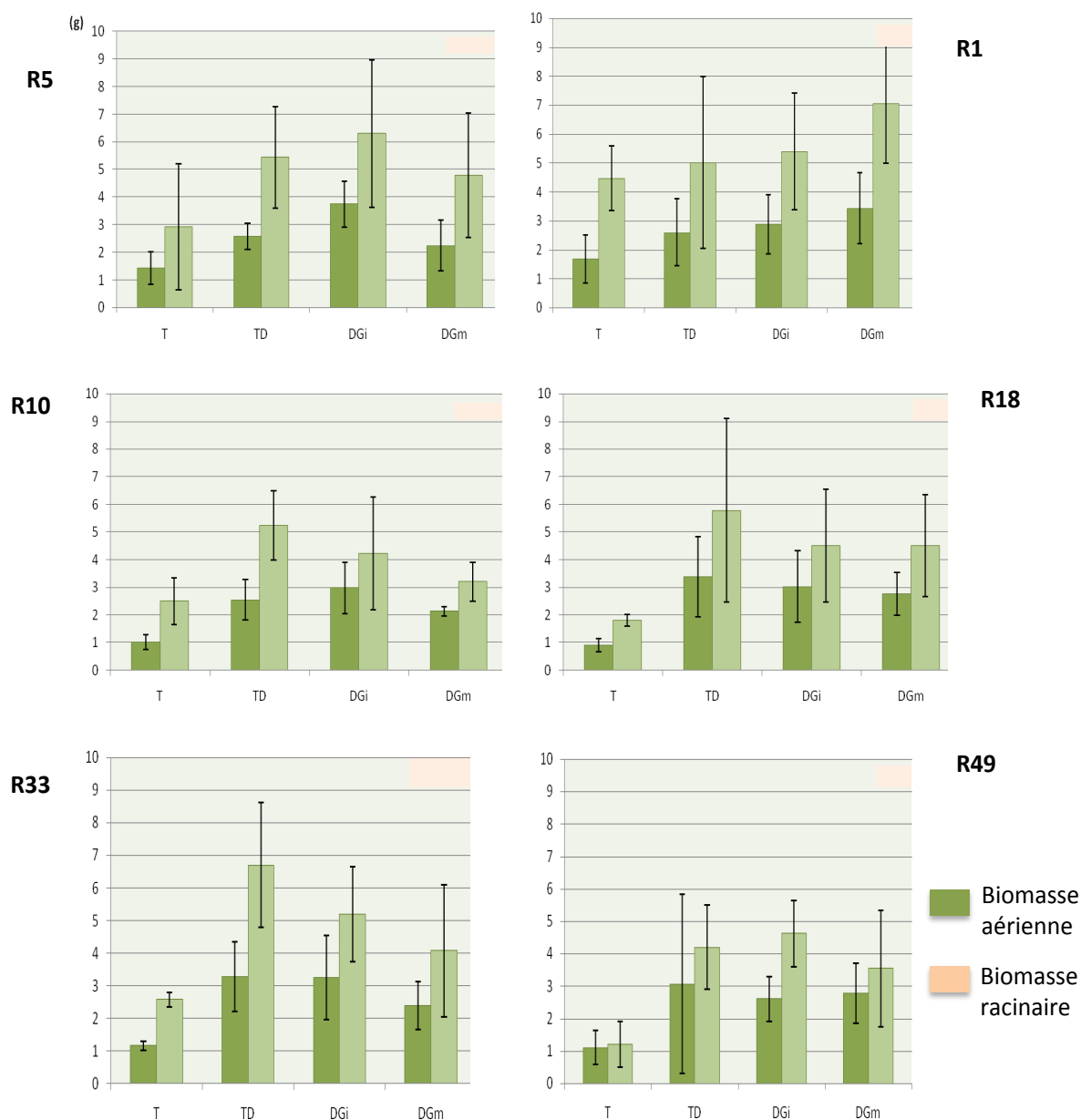
**Figure 41** : Fréquence (F%) et intensité (M%) de mycorhization de 6 variétés récentes de blé après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses; DGi : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *Funneliformis mosseae*.

## 2.9 - Biomasse de 6 variétés récentes sur le sol d'Epoisses

Pour les variétés récentes de blé, utilisées en culture biologique, la désinfection du sol (TD) améliore une fois de plus la croissance des plantes comme pour les variétés anciennes : la biomasse aérienne est augmentée sensiblement chez les variétés R5, R10, R18 et R33. Cette stimulation reste sensiblement égale avec la mycorhization (*R. irregularis* (DGi), et *F. mosseae* (DGm)). La biomasse racinaire est augmentée sensiblement chez les variétés R10,

R33 et R49. Cette stimulation reste sensiblement égale avec la mycorhization (*R. irregularis* (DG*i*), et *F. mosseae* (DG*m*)) à l'exception de la variété R50 ou elle est accentuée avec *F.mosseae* (DG*m*) (Fig.42).

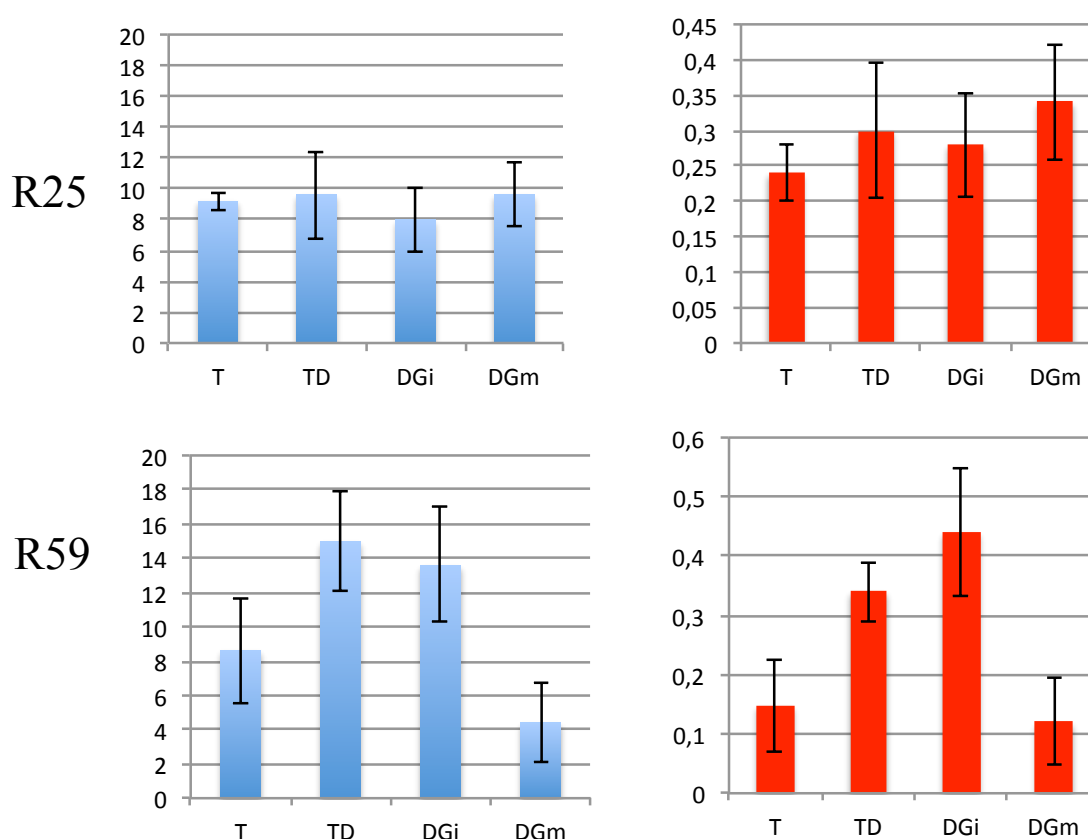
Contrairement aux variétés anciennes aucun effet mycorhizien n'a pu être observé.



**Figure 42 :** Biomasses fraîches de six variétés récentes de blé utilisées en agriculture biologique de blés après 11 semaines de culture en serre sur sol d'Epoisses. T : sol non désinfecté; TD : sol désinfecté ; DG*i* : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DG*m* : sol désinfecté inoculé avec *Funnelformis mosseae*.

## 2.10 – Rendement en graines de 2 variétés récentes de blé

Pour les variétés récentes de blé utilisées en culture biologique, le rendement en graines n'a aussi été évalué que pour deux variétés (R25 et R59). La figure 43 montre les variations selon les traitements du nombre de graines et leur masse par plante : pour R59, la désinfection du sol (TD) améliore sensiblement le nombre de graines et cette stimulation est sensiblement la même (nombre de graines produites) et légèrement plus importante (le poids des graines produites) avec l'inoculation de *R. irregularis* (DG*i*). Pour la variété R25, ni la désinfection, ni l'inoculation n'améliorent ces paramètres, que ce soit pour le nombre ou le poids des graines.



**Figure 43:** Nombre et poids des graines par plante de deux variétés récentes de blé utilisées en culture biologique (R25 et R59). T : témoin ; TD : témoin sur sol désinfecté ; DG*i* : sol désinfecté inoculé avec *Rhizophagus irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *Funneliformis mosseae*.

## 2.11 – Test de viabilité des graines de blé

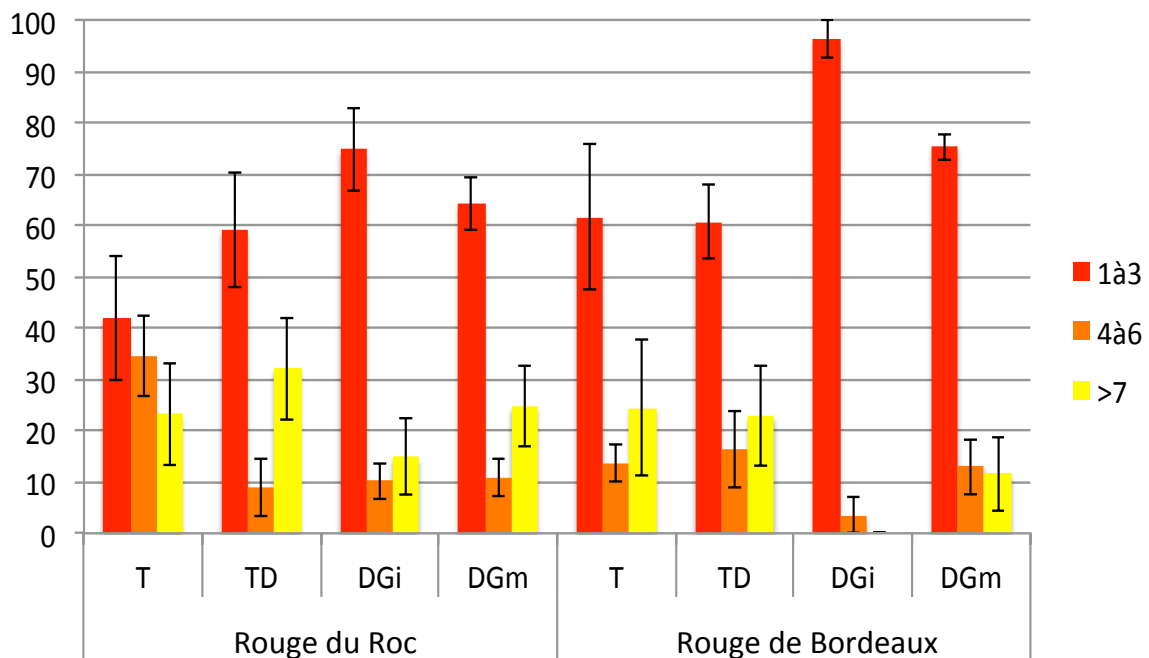
### Variétés anciennes de blé

Le test de viabilité a été réalisé sur les deux variétés anciennes de blé sur lesquelles on a évalué les rendements en graines (Rouge du Roc et Rouge de Bordeaux). La figure 44 présente les variations de viabilité des grains en fonction des traitements. Chez la variété Rouge du Roc, la désinfection du sol (TD) améliore le taux de grains de qualité supérieure (classe 1 à 3) (59,06 % contre 41,9 % chez le témoin (T)) et cette stimulation est accentuée par l'inoculation de *R. irregularis* (DGi) (74,84 %), mais aussi avec *F. mosseae* (DGm) (64,30%). Pour les grains de qualité moyenne (classe 4 à 6) les taux sont faibles et ne se différencient pas entre les traitements. En ce qui concerne les grains de mauvaise qualité (classe supérieure à 7), c'est-à-dire celles qui ne germent pas, leur taux sont les suivants : 23,33 % (T), 32,15 % TD, 14,9 % (DGi) et 24,72 % (DGm). Ainsi les graines de meilleure qualité sont plus abondantes chez les plantes inoculées et celles de mauvaise qualité plus fréquentes chez les plantes non inoculées.

Chez la variété Rouge de Bordeaux, en ce qui concerne les grains de qualité supérieure nous n'avons pas d'effet avec la désinfection alors que les plantes inoculées présentent encore une fois les taux les plus élevés quel que soit le champignon DGi = 82,49 % et DGm = 75,33 %. Pour les graines de mauvaise qualité (qui ne germent pas), les valeurs les plus élevées se retrouvent à nouveau dans les traitements T (22,87 %) et TD (24,5 %).

Il y a donc chez les plantes inoculées avec les souches connues moins de grains qui ne germent pas et plus de grains de qualité supérieure. Ces résultats mettent en évidence un effet mycorhizien sur la viabilité des graines des deux variétés.

%



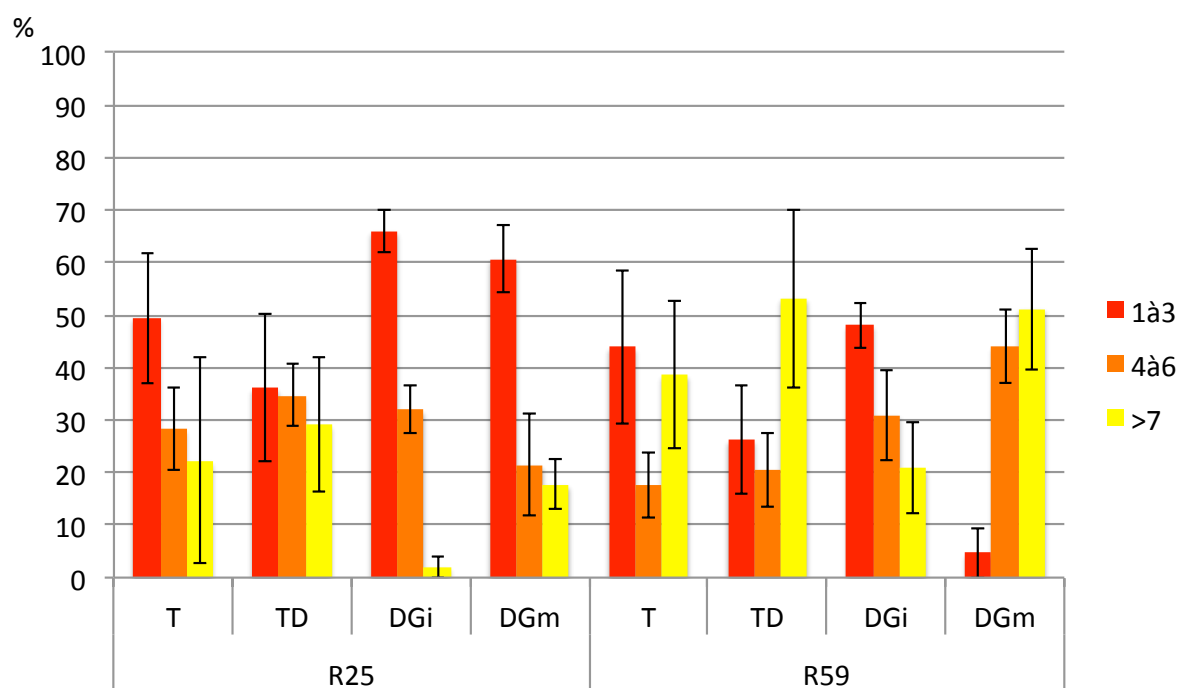
**Figure 44 :** Pourcentage de viabilité des graines de deux variétés anciennes de blé (Rouge du Roc et Rouge de Bordeaux). T : témoin ; TD : témoin sur sol désinfecté après 13 semaines de culture en serre; DGi : sol désinfecté inoculé avec *R. irregularis* et DGM : sol désinfecté inoculé avec *F. mosseae*. 1 à 3 : grains de qualité supérieure ; 4 à 6 : grain de bonne qualité et > 7 : grains ne pouvant pas germer.

### Variétés récentes de blé

Nous avons effectué le test de viabilité sur les deux variétés récentes de blé utilisées en culture biologique sur lesquelles ont été évalués les rendements en graines (R25 et R59). La figure 45 présente les variations de viabilité des grains en fonction des traitements. Chez la variété R25, l'inoculation améliore le taux de graines de qualité supérieure (66% DGi et 60,7% DGM contre 49,5% chez le témoin (T)). Pour les grains de qualité moyenne comme pour les variétés anciennes, les taux ne se différencient pas entre les traitements. Et en ce qui concerne les graines de mauvaise qualité, leur taux sont les suivants : 22,2% (T), 29,2% TD, 2,1% (DGi) et 17,8% (DGM). Ainsi les graines de meilleure qualité sont plus abondantes chez les plantes inoculées et celles de mauvaise qualité se retrouvent plus fréquemment chez les plantes non inoculées (Fig.45).

Chez la variété R59, en ce qui concerne les graines de qualité supérieur, nous n'avons pas d'effet positif dû à l'inoculation (48,1 % DGi et 4,8% DGm contre 43,9 % chez le témoin (T)). Les pourcentages des graines de qualité moyenne et de mauvaise qualité ne se différencient pas entre les traitements.

Ces résultats mettent en évidence un effet mycorhizien sur la viabilité des graines chez la variété R25 et non chez la variété R59.



**Figure 45 :** Pourcentage de viabilité des graines de deux variétés anciennes de blé (R25 et R59). T : témoin ; TD : témoin sur sol désinfecté après 13 semaines de culture en serre; DGi : sol désinfecté inoculé avec *R. irregularis* et DGm : sol désinfecté inoculé avec *F. mosseae*. 1 à 3 : grains de qualité supérieur ; 4 à 6 : grain de bonne qualité et > 7 : grains ne pouvant pas germer.

### **3 – Mycorhization de 10 variétés anciennes de blé et impact sur la biomasse et la qualité du grain en serre**

#### **3.1 – Taux de mycorhization de 10 variétés anciennes cultivées avec le sol d'Epoisses**

Au tallage, avec la population indigène de CMA (T) la fréquence de mycorhization (F%) varie de 8,1% à 58,9%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 2,6% et 20,3% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 2,2% et 25,9%. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), La fréquence de mycorhization (F%) varie désormais de 20% à 55,1%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille maintenant entre 3,4% et 16,8% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 1,3% et 28,2%. Avec la désinfection et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la fréquence de mycorhization (F%) varie de 0% à 35%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 0% et 13% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 0% et 18% (Fig.46A). A ce stade phénologique de développement, 3 variétés (Rouge d'Altkirch, Blanc de Lorraine et Poulard d'Australie) présentent de meilleurs taux de mycorhization chez les plantes inoculées (Fig.46).

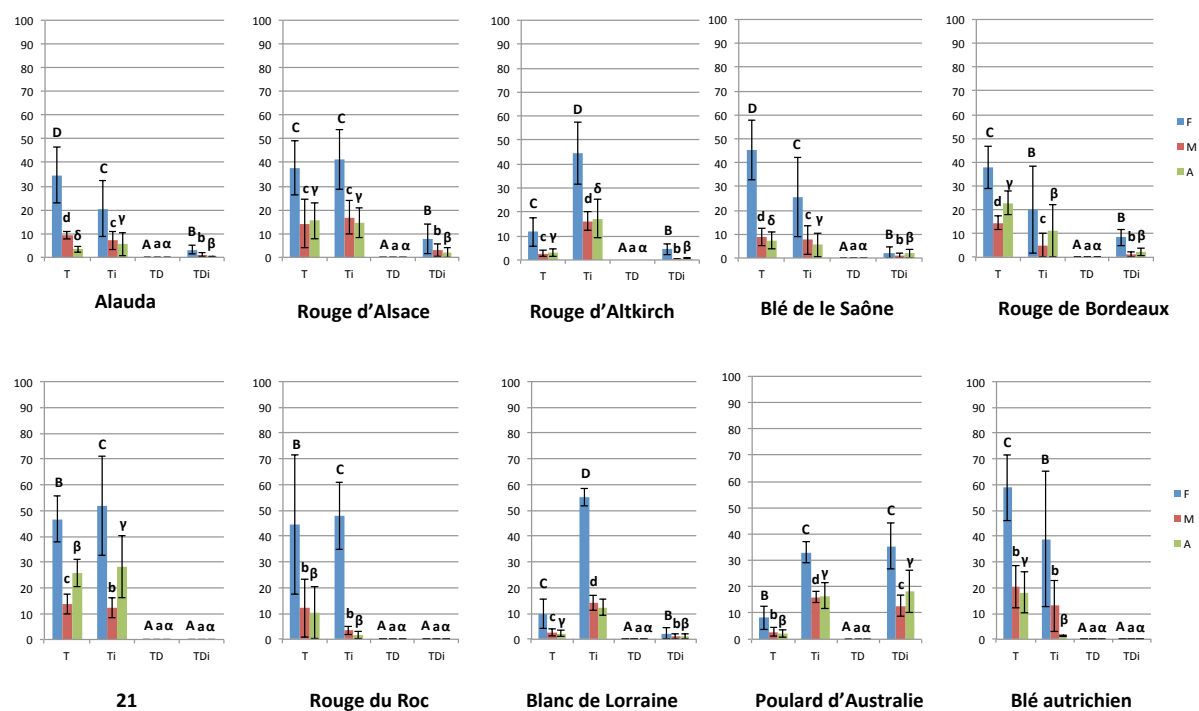
A l'Epiaison, avec la population indigène de CMA (T) avec la population indigène de CMA (T) la fréquence de mycorhization (F%) varie de 67% à 94,4%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 17% et 40,9% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 9,6% et 35,9%. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), La fréquence de mycorhization (F%) varie désormais de 63% à 97%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille maintenant entre 16% et 47% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 5,7% et 27%. Avec la désinfection et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la fréquence de mycorhization (F%) varie de 16% à 80%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 0% et 17% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 0% et 7,9% (Fig.46B). Les différences de taux de mycorhization s'estompent, nous n'avons plus qu'une variété (Blé autrichien) qui présente de meilleurs taux pour les plantes inoculées (Fig.46).

A Maturité des épis, avec la population indigène de CMA (T) la fréquence de mycorhization (F%) varie de 55,6% à 100%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre

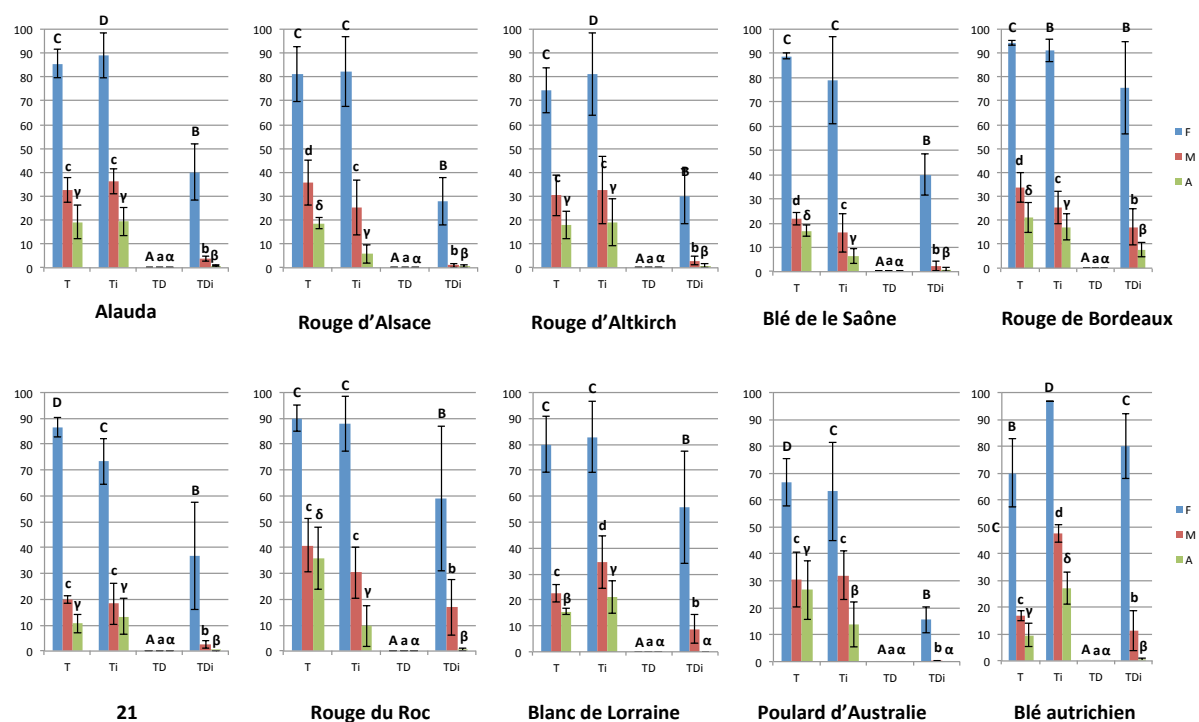
10,8% et 61,1% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 4% et 53,9%. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), La fréquence de mycorhization (F%) varie désormais de 64% à 96,7%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille maintenant entre 16% et 37,2% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 5% et 21,7%. Avec la désinfection et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la fréquence de mycorhization (F%) varie de 18% à 71,1%, l'intensité de mycorhization (M%) oscille entre 1,3% et 17% et le taux d'arbuscules (A%) se situe entre 0% et 1,3% (Fig.46C). A maturité des épis, trois variétés présente à nouveau de meilleurs taux de mycorhization chez les plantes inoculées seulement pour certains paramètres : 21 (F% et M%), Rouge du Roc (M% et A%), et Blanc de Lorraine (F%) (Fig.46).



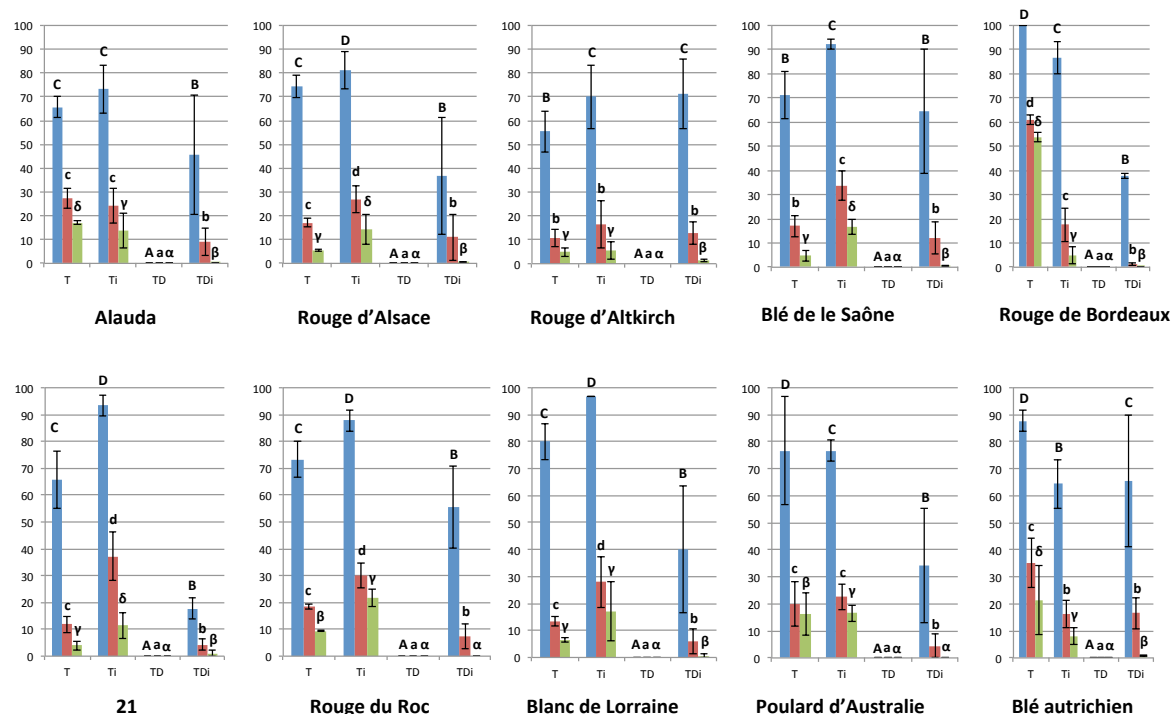
A



B



C



**Figure 46 :** Mycorhization de dix variétés anciennes de blé en serre : Fréquence de mycorhization (F%), Intensité de mycorhization (M%) et Taux d'arbuscules (A%) à trois stades phénologiques de développement Tallage (A), Epiaison (B), Maturité des épis (C) sous les traitements T : avec la population indigènes de CMA, Ti : avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>, TD : sur un sol désinfecté et TDi : désinfection du sol et apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>

### 3.2 – Evolution de la symbiose durant le développement des 10 variétés de blé cultivées avec le sol d'Epoisses

En conditions contrôlées en serre, les 10 variétés retenues après le criblage au champ et une première expérience en serre sur 8 variétés anciennes de blé, se mycorhizent toutes dès le stade Tallage avec la population de CMA naturellement présente dans le sol prélevé au champ (Fig.47A). Selon la variété, la fréquence de mycorhization (F%) varie entre 8,1% et 58,9% au Tallage, entre 66,7% et 94,4% à l'Epiaison et entre 55,6% et 100% à Maturité des épis. L'intensité de mycorhization (M%) au Tallage, à l'Epiaison et à Maturité des épis se situe respectivement entre 2,6% et 20,3%, 16,7% et 40,9%, et entre 10,8% et 61,1%. Le taux

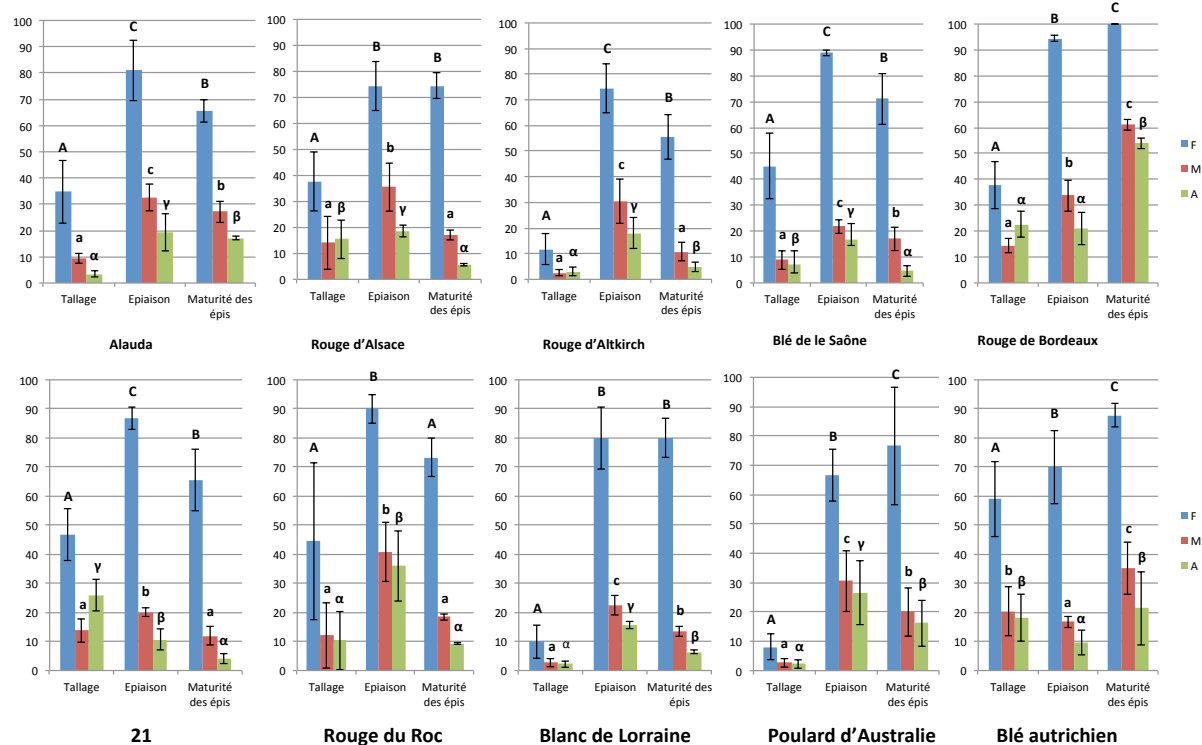
d'arbuscules (A%) quant à lui varie entre 2,2% et 25,9% au Tallage, entre 9,6% et 35,9% à l'Épiaison, et entre 4% et 53,9% à Maturité des épis. 7 des 10 variétés testées atteignent leur pic de mycorhization à l'Épiaison en présence des CMA indigènes.

L'apport d'un inoculum exogène (SYMBIVIT<sup>®</sup>) modifie le comportement des variétés différemment par rapport aux plantes non inoculées (Fig.47B). la fréquence de mycorhization (F%) varie entre 20% et 55,1% au Tallage, entre 63,3% et 96,7% à l'Épiaison et entre 64,4% et 96,7% à Maturité des épis. L'intensité de mycorhization (M%) au Tallage, à l'Épiaison et à Maturité des épis se situe respectivement entre 3,4% et 16,8%, 16% et 47,5%, et entre 16,3% et 37,2%. Le taux d'arbuscules (A%) quant à lui varie entre 1,3% et 28,2% au Tallage, entre 5,7% et 27,2% à l'Épiaison, et entre 5% et 21,7% à Maturité des épis. 7 des 10 variétés testées atteignent leur pic de mycorhization à l'Épiaison avec l'association CMA indigènes et SYMBIVIT<sup>®</sup>.

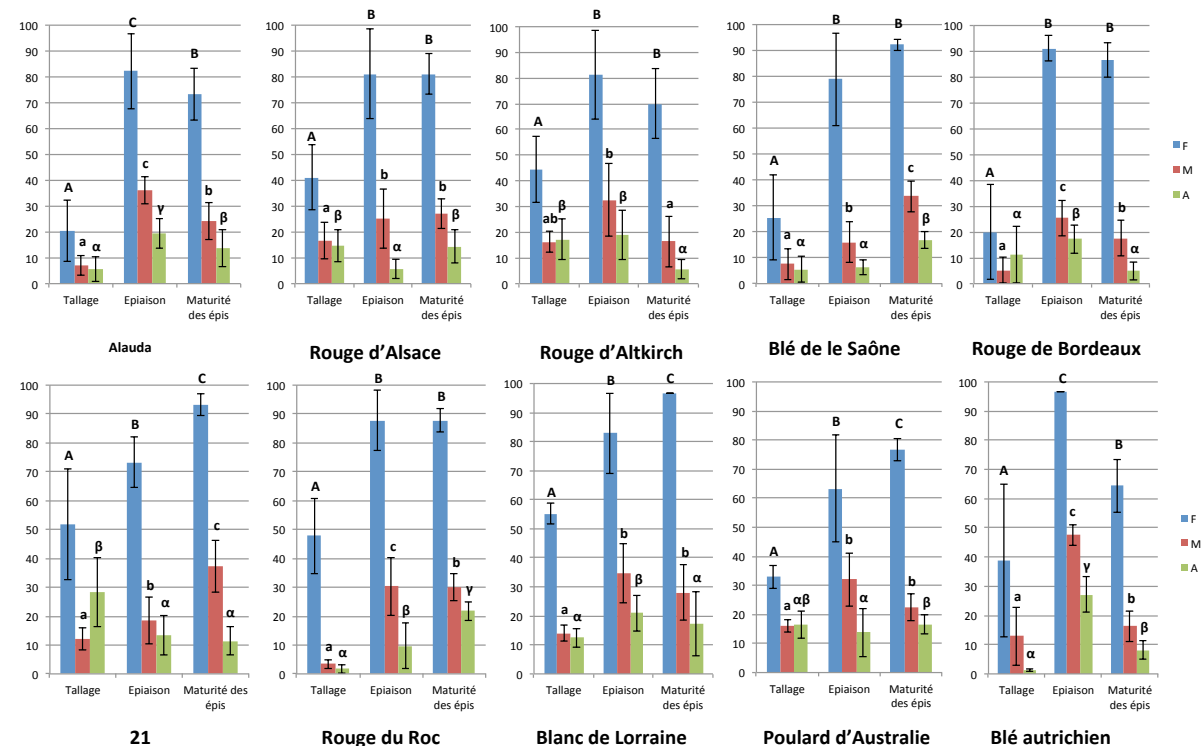
L'association entre l'apport d'un inoculum exogène (SYMBIVIT<sup>®</sup>) et la désinfection du sol modifie très fortement le comportement des variétés par rapport aux autres traitements (Fig.47C). la fréquence de mycorhization (F%) varie entre 0% et 35,4% au Tallage, entre 15,6% et 80% à l'Épiaison et entre 17,8% et 71,1% à Maturité des épis. L'intensité de mycorhization (M%) au Tallage, à l'Épiaison et à Maturité des épis se situe respectivement entre 0% et 12,8%, 0% et 17,1%, et entre 1,3% et 16,5%. Le taux d'arbuscules (A%) quant à lui varie entre 0% et 18,1% au Tallage, entre 0,5% et 7,9% à l'Épiaison, et entre 0% et 1,1% à Maturité des épis. Six des 10 variétés testées atteignent leur pic de mycorhization à l'Épiaison en présence uniquement des CMA contenus dans le SYMBIVIT<sup>®</sup>.

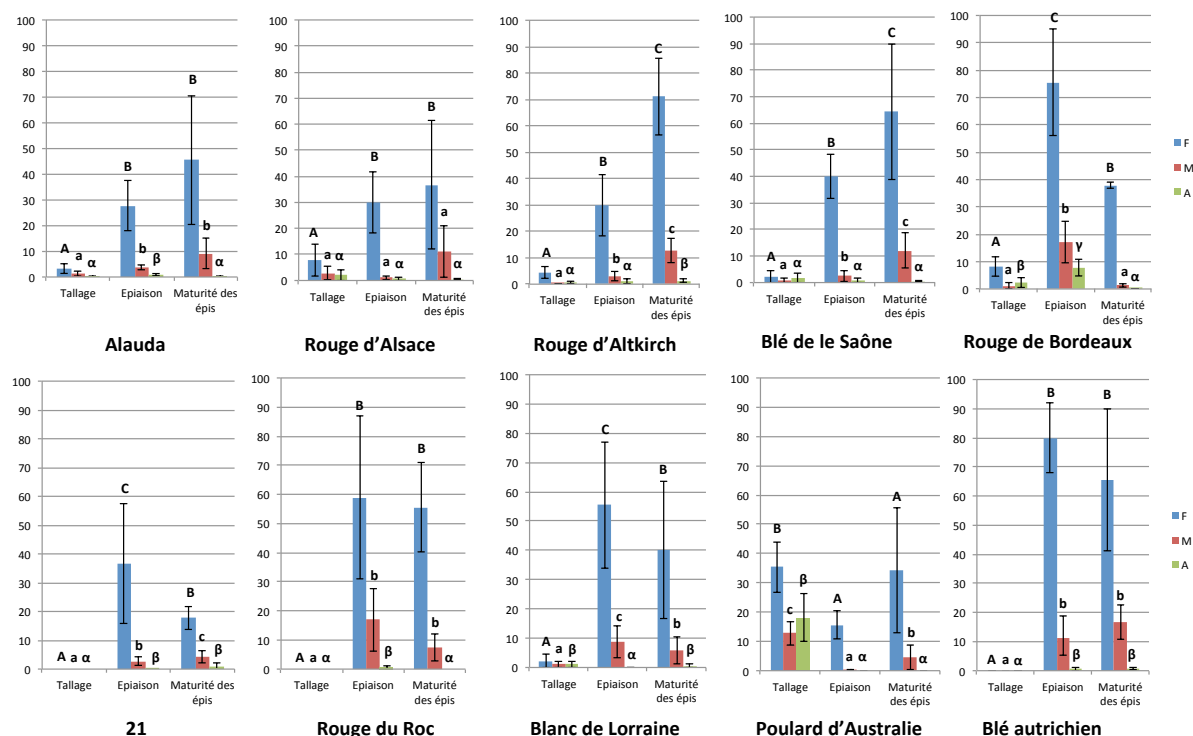
D'une manière générale, les variétés testées atteignent leur pic de mycorhization lors de la mise en place des épis avec la population indigène de champignon mycorhizogène. Et l'association inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup> et CMA indigènes semble maintenir de forts taux de mycorhization à maturité des épis.

A



B





**Figure 47 :** Evolution de la Mycorhization de dix variétés anciennes de blé en serre : sous différents traitements T : avec la population indigènes de CMA (A), Ti : avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (B) et TDi : désinfection du sol et apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (C). Fréquence de mycorhization (F%), Intensité de mycorhization (M%) et Taux d'arbuscules (A%) à trois stades phénologiques de développement Tallage, Epiaison et Maturité des épis

### 3.3 – Effet de la mycorhization sur la biomasse de 10 variétés anciennes cultivées avec le sol d'Epoisses

Au tallage, avec la population indigène de CMA (T) la biomasse aérienne (PA) varie de 1,5g à 7,2g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 0,9g et 12,2g. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), la biomasse aérienne (PA) varie de 3,2g à 6,3g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 1,5g et 21g. Avec la désinfection du sol (TD), la biomasse aérienne (PA) varie de 4,9g à 13g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 2,3g et 33g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la biomasse aérienne (PA) varie de 1,5g à 7,2g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 7,4g et 13,9g (Fig.48A). 8 variétés présentent de meilleurs biomasses chez les plantes inoculées : Alauda (PA et PR), Rouge d'Alsace (PA et PR), Blé de

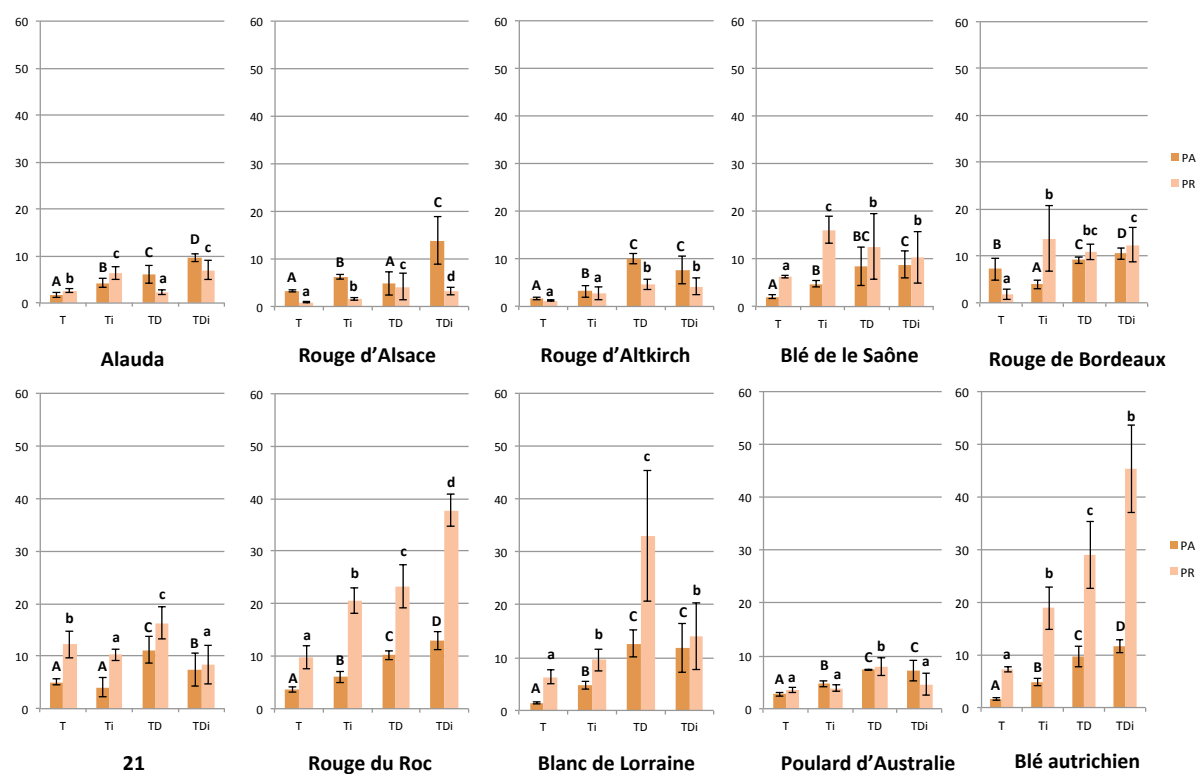
la Saône (PA et PR), Rouge du Roc (PA et PR), Poulard d'Australie (PA et PR), Blé autrichien (PA et PR), Blanc de Lorraine (PA) et Rouge de Bordeaux (PR) (Fig.48).

A épiaison, avec la population indigène de CMA (T), la biomasse aérienne (PA) varie de 10g à 46,7g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 7,7g et 38g. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), la biomasse aérienne (PA) varie de 25g à 73,3g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 3,8g et 73g. Avec la désinfection du sol (TD), la biomasse aérienne (PA) varie de 100g à 160g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 47g et 147g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la biomasse aérienne (PA) varie de 108g à 173,3g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 45g et 147g (Fig.48B). Les 10 variétés présentent de meilleurs biomasses chez les plantes inoculées : Blanc de Lorraine (PA et PR), Alauda (PA), Rouge d'Alsace (PA), Rouge d'Altkirch (PA), Blé de la Saône (PA), Rouge du Roc (PA), Blé autrichien (PA), Rouge de Bordeaux (PR), 21 (PR), et Poulard d'Australie (PR) (Fig.48).

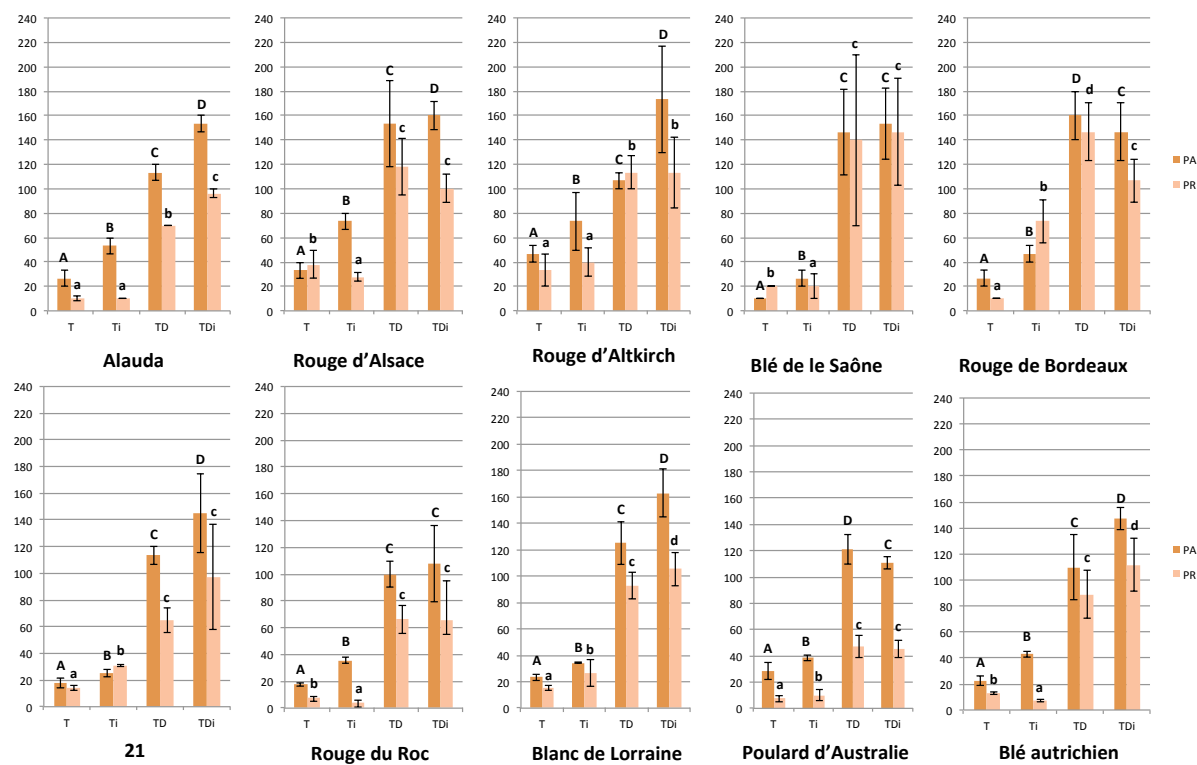
A maturité des épis, avec la population indigène de CMA (T) la biomasse aérienne (PA) varie de 9,9g à 19g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 2,6g et 39g. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), la biomasse aérienne (PA) varie de 11,8g à 22g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 3,8g et 30g. Avec la désinfection du sol (TD), la biomasse aérienne (PA) varie de 32g à 52g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 8,4g et 107g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), la biomasse aérienne (PA) varie de 33g à 64,5g, la biomasse racinaire (PR) oscille entre 11g et 100g (Fig.48C). Sept variétés présentent de meilleures biomasses chez les plantes inoculées : Rouge d'Alsace (PA et PR), Rouge d'Altkirch (PA et PR), Blé de la Saône (PA et PR), Rouge de Bordeaux (PA et PR), Rouge du Roc (PA et PR), Blanc de Lorraine et Poulard d'Australie (PA et PR), 21 (PR) et Blé autrichien (PR) (Fig.48).

D'une manière générale, les plantes se développant sur les sols désinfectés présentent de meilleures biomasses, ce qui traduit la présence dans ce sol de microorganismes néfastes au développement des blés

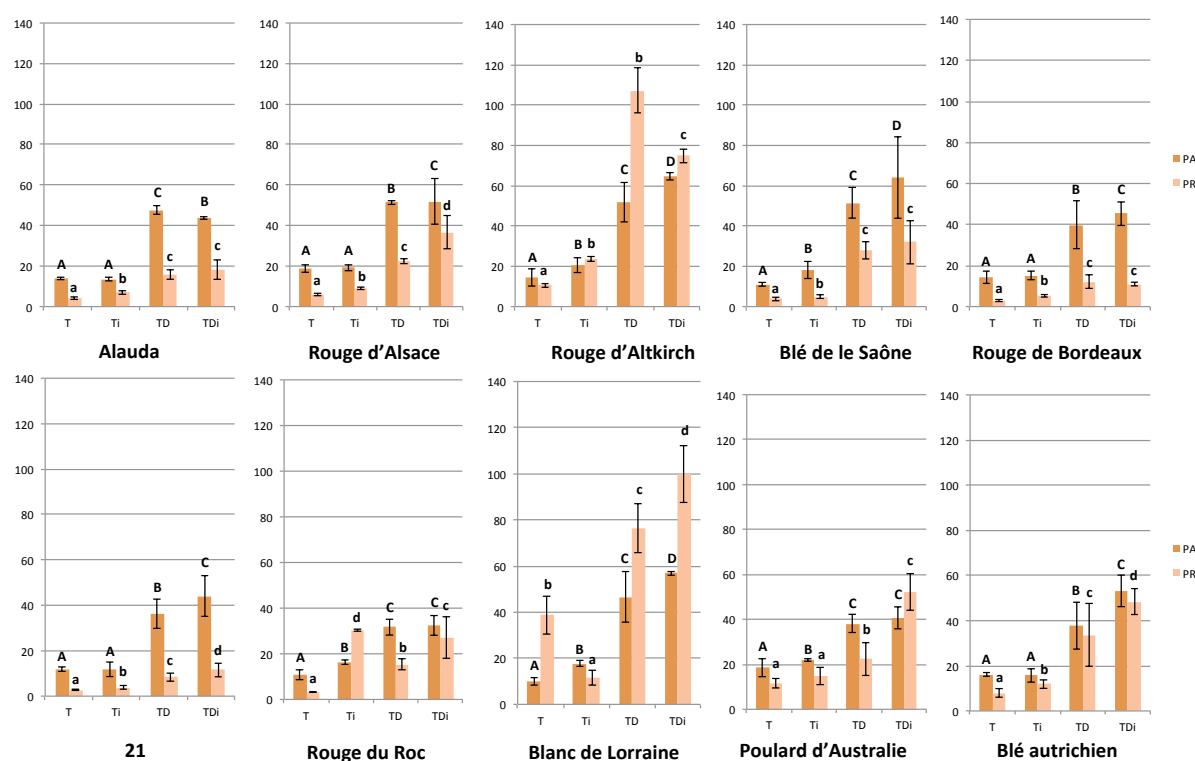
**A**



**B**



C



**Figure 48 :** Biomasse fraîche de dix variétés anciennes de blé en serre : partie aérienne (PA) et partie racinaire (PR) à trois stades phénologiques de développement Tallage (A), Epiaison (B), Maturité des épis (C) sous les traitements T : avec la population indigènes de CMA, Ti : avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>, TD : sur un sol désinfecté et TDi : désinfection du sol et apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>

### 3.4 – Rendement et qualité des graines des 10 variétés anciennes de blé cultivées avec le sol d'Epoisses

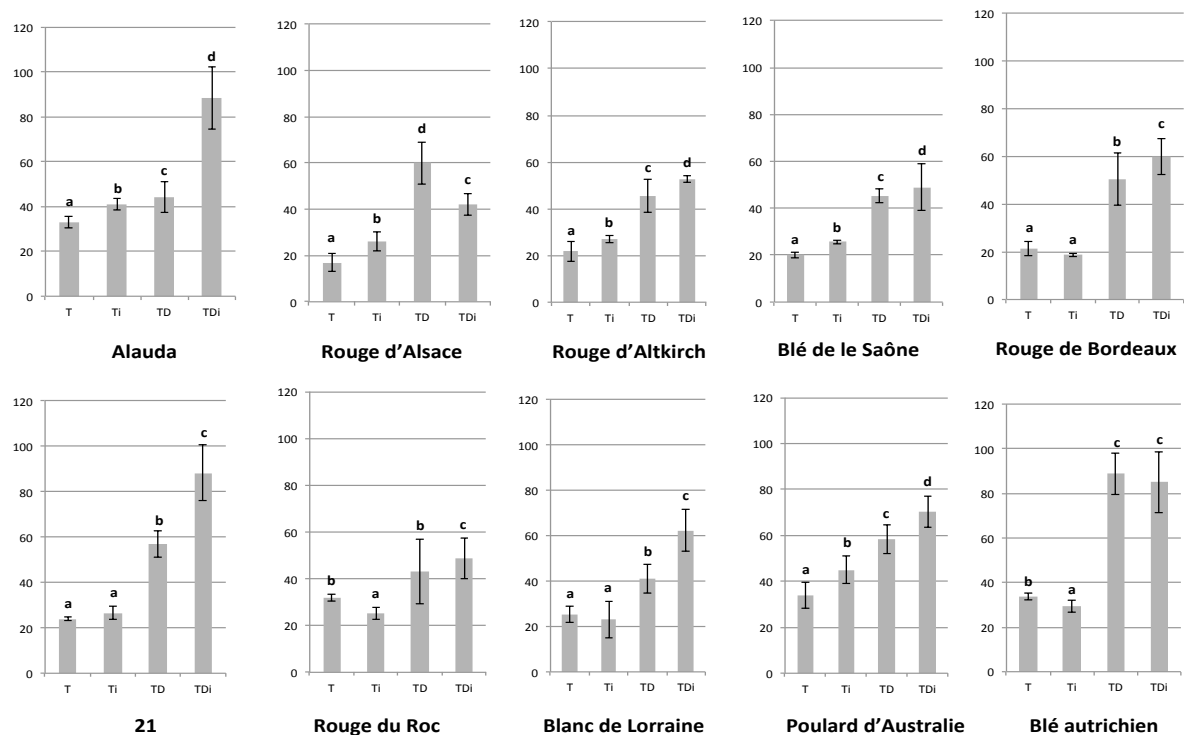
Le nombre de graines par plante avec la population indigène de CMA (T) varie de 17 à 34 graines. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), il varie de 19 graines à 45 graines. Avec la désinfection du sol (TD), ce paramètre oscille entre 41graines et 89g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), le nombre de graine varie de 42 à 85 graines (Fig.49A). Cinq variétés (Alauda, Rouge d'Alsace, Rouge d'Altkirch, Blé de la Saône, 21 et Poulard d'Australie) présentent un nombre plus élevé de graines par plante chez les plantes inoculées se développant sur un sol non désinfecté.



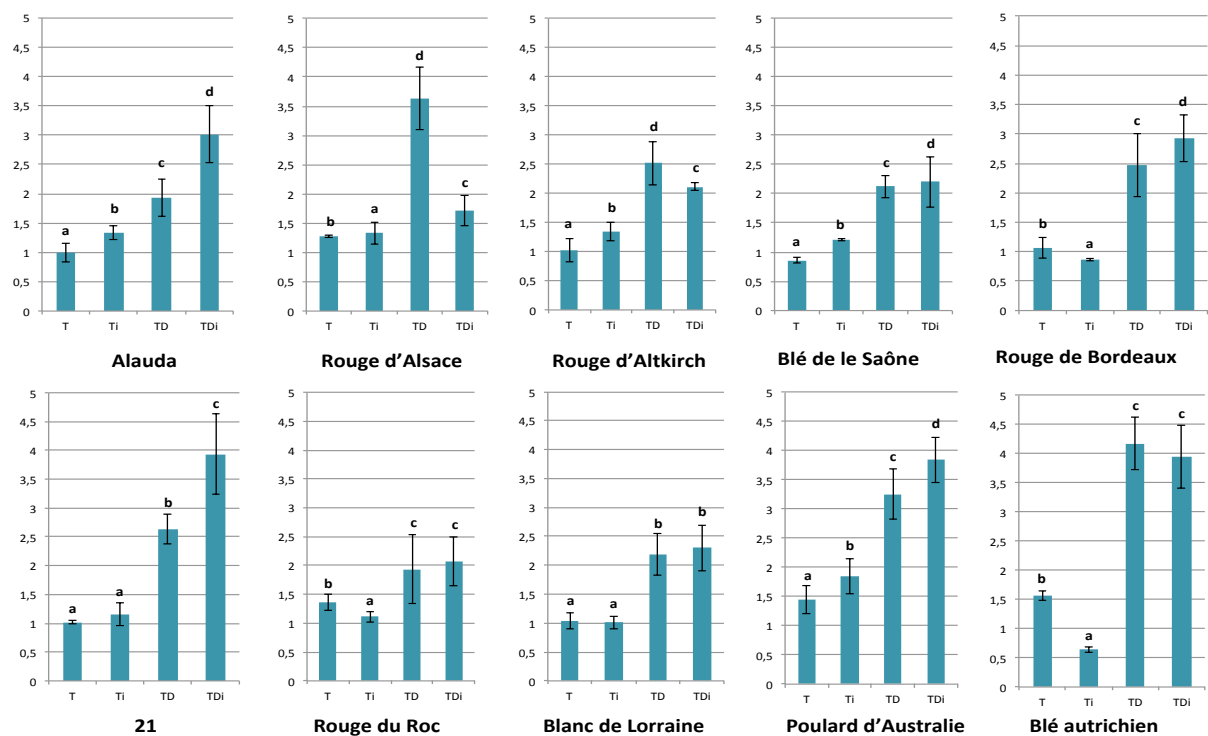
Le poids des graines par plante avec la population indigène de CMA (T) varie de 0,9g à 1,6 g. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), il varie de 0,6g à 1,8g. Avec la désinfection du sol (TD), ce paramètre oscille entre 1,9g et 4,2g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), le poids des graines varie de 1,7g à 3,9g (Fig.49B). 5 variétés (Alauda ; Rouge d'Alsace; Rouge d'Altkirch; Blé de la Saône et Poulard d'Australie) présentent un meilleur poids pour l'ensemble des graines par plante chez les plantes inoculées se développant sur un sol non désinfecté.

Le poids par graine avec la population indigène de CMA (T) varie de 0,03g à 0,08g. Avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (Ti), il varie de 0,02 à 0,05g. Avec la désinfection du sol (TD), ce paramètre oscille entre 0,04g et 0,06g. Avec la désinfection du sol et l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup> (TDi), le poids des graines varie de 0,03g à 0,05g (Fig.49C). 5 variétés (Rouge d'Altkirch ; Blé de la Saône ; 21; Rouge du Roc et Blanc de Lorraine.) présentent un meilleur poids par graine chez les plantes inoculées se développant sur un sol non désinfecté.

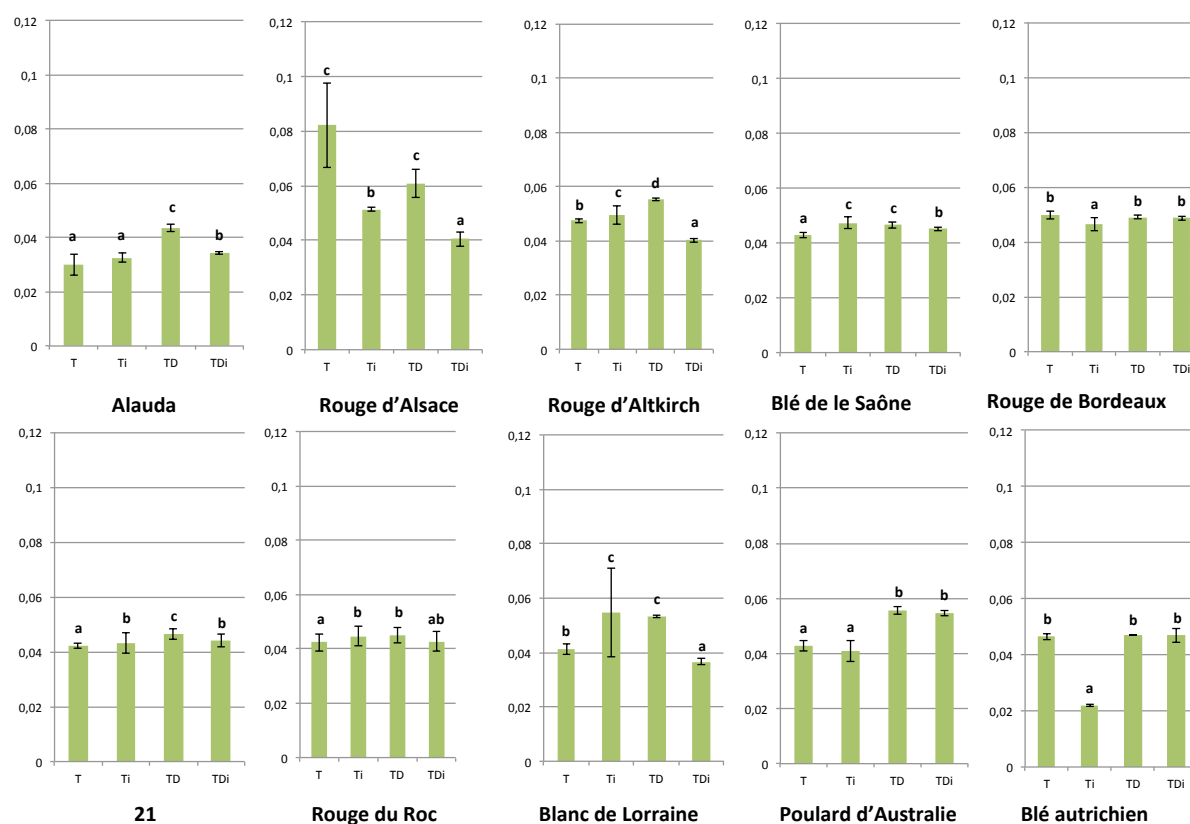
A



B



C

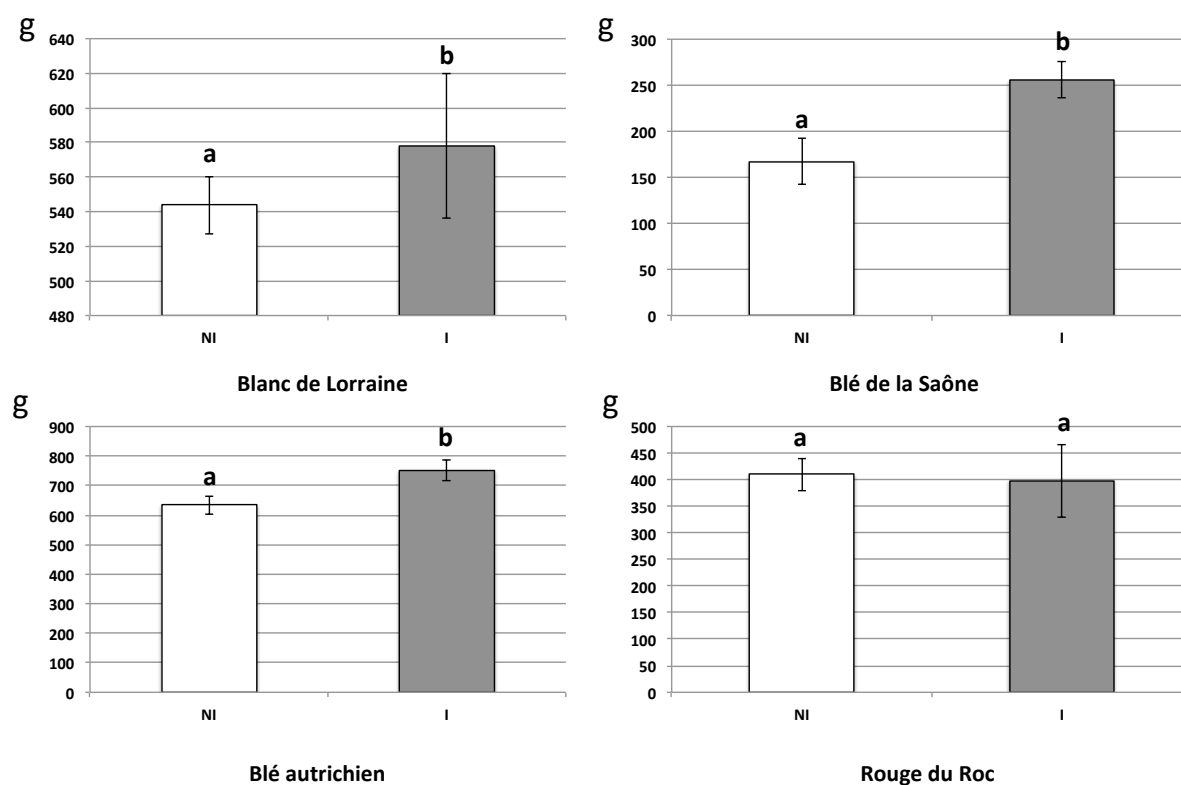


**Figure 49** : Rendement en graines de dix variétés anciennes de blé en serre : Nombre de graines par plante (A), Poids des graines (B) et le poids par graines (C) sous les traitements T : avec la population indigènes de CMA, Ti : avec l'apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>, TD : sur un sol désinfecté et TDi : désinfection du sol et apport du SYMBIVIT<sup>®</sup>

## 4 – Impact de la mycorhization sur les rendements et la qualité des grains de 4 variétés anciennes de blé cultivées au champ

### 4.1 – Rendement en graines

Le rendement en graines varie selon les quatre variétés de blé ancien ; à l'exception de la variété Rouge du Roc, il est sensiblement augmenté par l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> dans tous les cas. Le rendement des plantes inoculées par rapport aux non-inoculées est augmenté de 6,3% pour la variété Blanc de Lorraine, de 250% pour la variété Blé de la Saône et de 18% pour la variété Blé autrichien (Fig.50). Les rendements faibles observés par rapport à ceux habituellement obtenus en France chez la variété Blé de la Saône, pourraient s'expliquer par le développement de la carie du blé, constatée à la récolte.

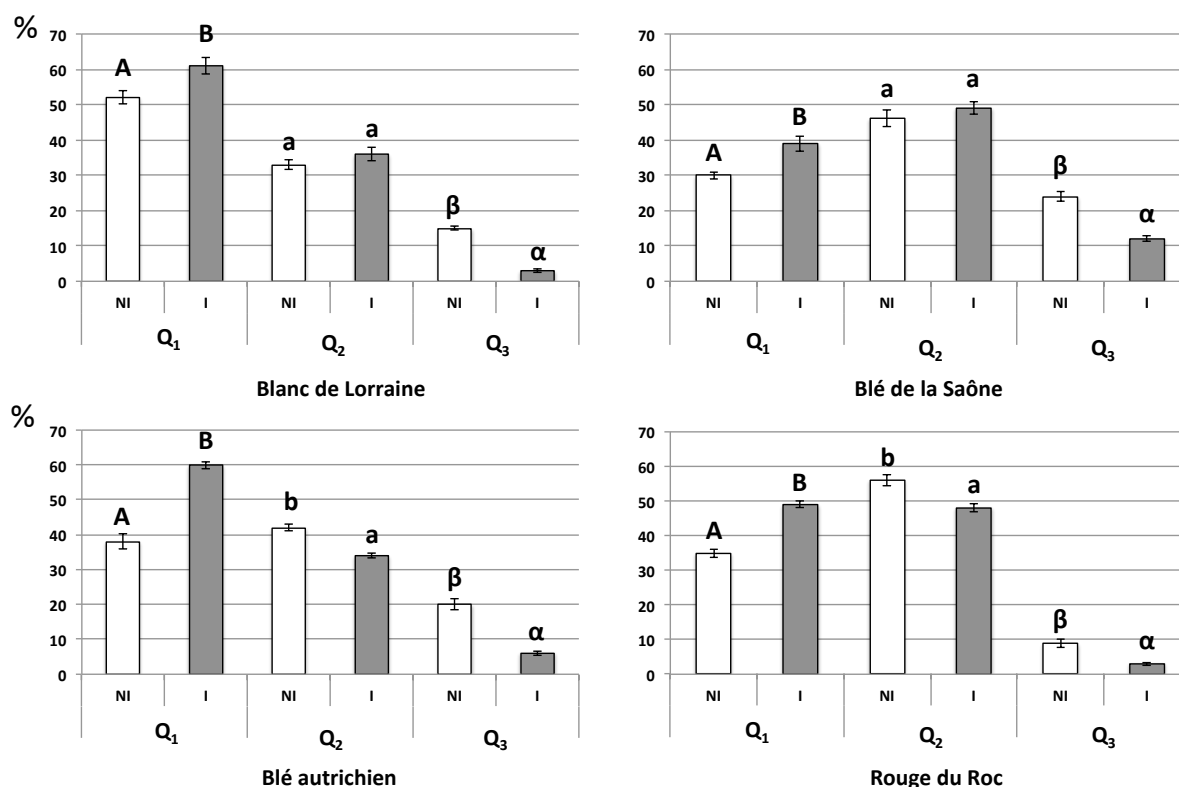


**Figure 50 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène au champ sur le rendement en poids de graines par parcelle des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> (I). Les barres avec les mêmes lettres ne sont pas différentes selon le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

## 4.2 – Viabilité des graines

L'impact de l'inoculation avec SYMBIVIT® sur la qualité des graines, selon le test TTC, varie peu d'une variété à l'autre (Fig.51). Pour la variété Blanc de Lorraine, l'inoculation permet une augmentation de 17% de graines d'excellente qualité à la récolte. L'inoculation diminue aussi de 80% le nombre des graines de mauvaise qualité. Par contre elle n'a pas d'effet sensible sur les graines de qualité moyenne, dont le pourcentage reste semblable (33% et 36% respectivement pour les plantes non inoculées et les plantes inoculées) (Fig.51). Des résultats analogues sont obtenus avec les trois autres variétés. Pour la variété Blé de la Saône les graines d'excellente qualité augmentent de 30%, le nombre de graines de mauvaise qualité diminuent de 50%, alors que le pourcentage des graines de qualité moyenne n'est que peu modifié (Fig.51). Avec la variété Blé autrichien l'inoculation augmente la part de la récolte des graines d'excellente qualité de 57% et diminue celle de mauvaise qualité de 70%; les graines de qualité moyenne baissent de 20% (Fig.51). De même pour la variété Rouge du Roc, la part de graines d'excellente qualité augmente de 40%, et celle de mauvaise qualité baisse de 66%, suite à l'inoculation avec SYMBIVIT® (Fig.51). La part de graines de qualité moyenne n'est que peu affectée par l'inoculation (-15%).

Dans l'ensemble, ces résultats montrent que l'inoculation avec SYMBIVIT® et la mycorhization qui en résulte augmente, chez les quatre variétés anciennes de blé étudiées, la production en graines de meilleure qualité tout en diminuant la production en graines de mauvaise qualité.

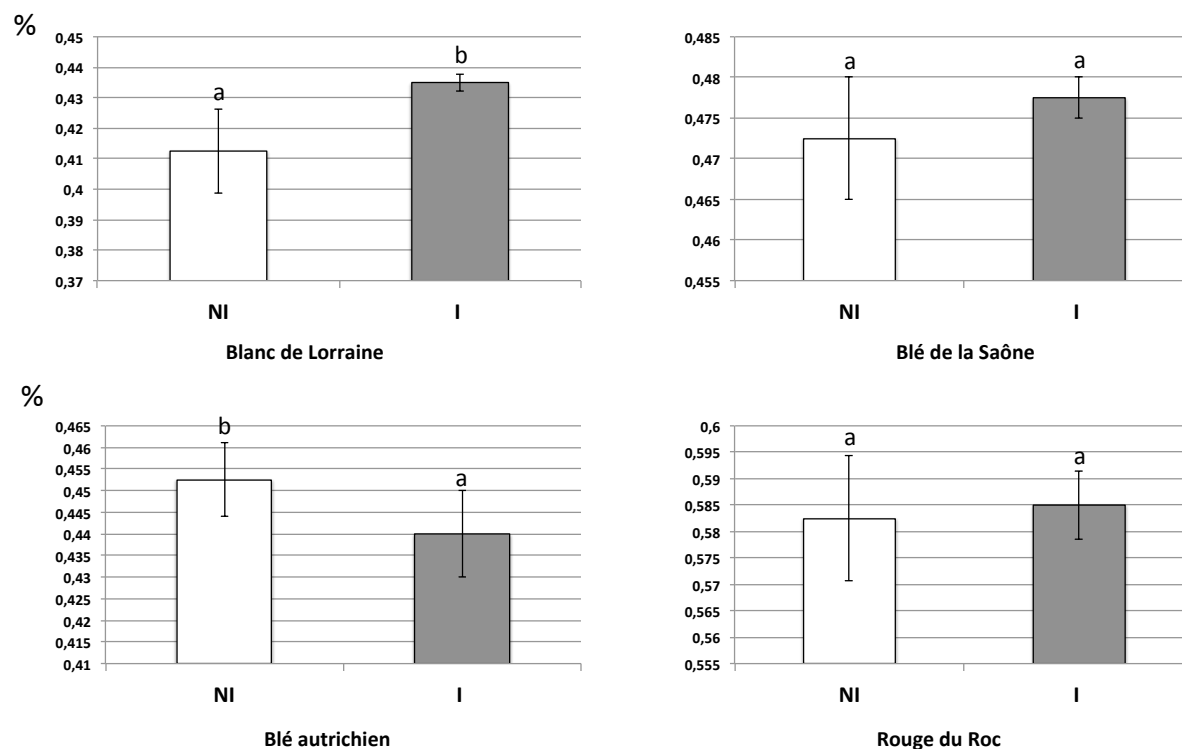


**Figure 51 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur la viabilité (qualité) des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Q<sub>1</sub> : graines d'excellente qualité, Q<sub>2</sub> : graines de qualité moyenne et Q<sub>3</sub> : graines de mauvaise qualité. Les barres avec les mêmes lettres ne sont pas différentes selon le test non paramétrique de Kruskal-Wallis

### 4.3 – Taux de phosphore des graines

Le taux de phosphore des graines varie aussi en fonction des variétés de blé étudiées (Fig.52). Chez la variété Blanc de Lorraine le taux de phosphore des graines issues de plantes non inoculées est de 0,412%, et augmente de 5,6% chez celles de plantes inoculées. Pour la variété Blé de la Saône, les teneurs sont comparables (respectivement de 0,472% et 0,477%), et pour la variété Blé autrichien, il diminue de 2,6% (0,452% à 0,440%) après inoculation. Enfin pour la variété Rouge du Roc, le taux de phosphore des graines issues de plantes non inoculées et inoculées est respectivement de 0,582% et de 0,585% (Fig.52). L'effet particulièrement marqué de la mycorhization sur le contenu en phosphore des graines des

variétés Blanc de Lorraine et Blé autrichien souligne l'importance de la plante-hôte dans l'expression bénéfique de la symbiose.

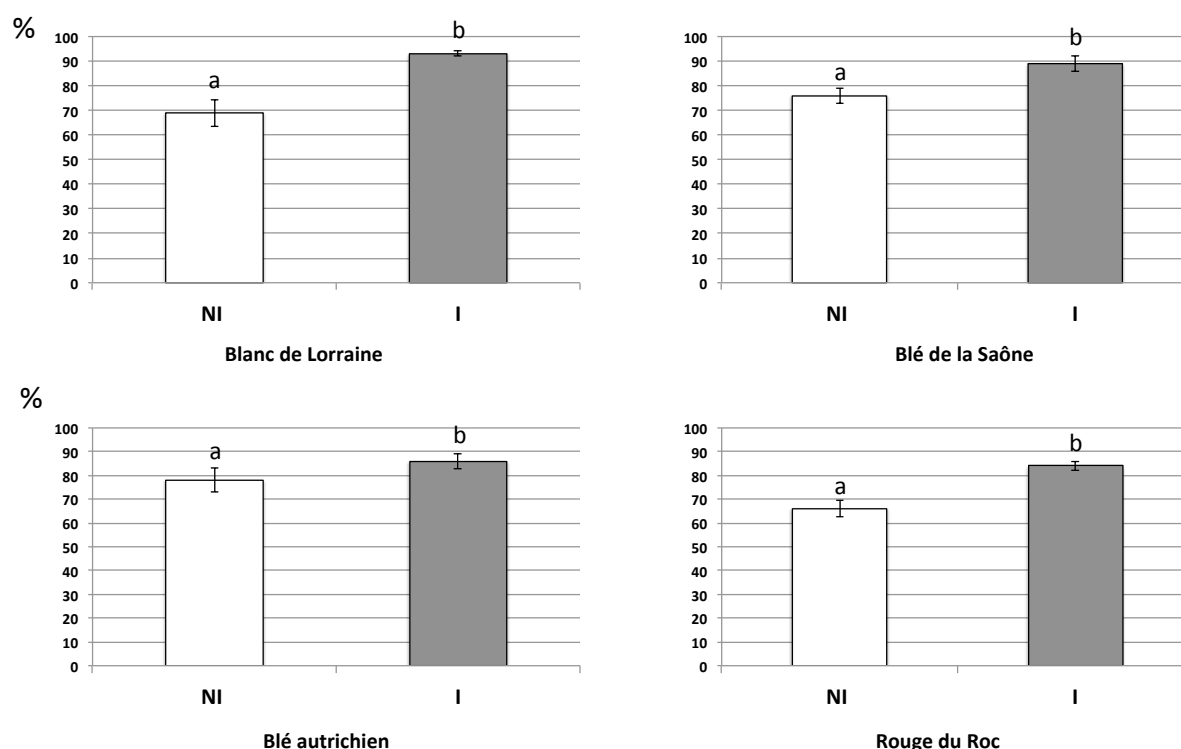


**Figure 52 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le taux de phosphore des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Les barres avec les mêmes lettres ne sont pas différentes selon le test non paramétrique de Kruskal-Wallis

#### 4.4 – Test de germination des graines

Le pourcentage de germination des graines varie en fonction des quatre variétés de blé étudiées, mais il est toujours sensiblement supérieur chez les graines issues de plantes inoculées avec SYMBIVIT® (Fig.53). Chez la variété Blanc de Lorraine, le pourcentage de germination des graines est augmenté de 34% suite à l'inoculation. Ces pourcentages sont respectivement de 17% pour la variété Blé de la Saône, de 10% pour la variété Blé autrichien et pour la variété Rouge du Roc.

Ces résultats confortent ceux sur la viabilité des graines et soulignent l'intérêt d'une mycorhization pour une production de qualité des blés anciens.



**Figure 53 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le pouvoir de germination des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Les barres avec les mêmes lettres ne sont pas différentes selon le test non paramétrique de Kruskal-Wallis

## 5 – Conclusion

L'ensemble des résultats présenté ici montre l'importance du génotype de la plante hôte dans le développement et l'expression de la symbiose mycorhizienne à arbuscule. Ainsi des variétés voient leur biomasse et rendements augmenter, alors que d'autres ne semblent pas en bénéficier. L'effet variétal pourrait être lié à l'absorption de certains éléments du sol connus pour être améliorés par la symbiose mycorhizienne comme le phosphore (P) qui a varié selon les cultivars. Ainsi l'expression de la symbiose dépendrait du génotype de la plante hôte et celui du champignon considéré. Les variations de biomasses observées entre les



variétés anciennes et les variétés récentes pourraient s'expliquer par les processus de sélection mis en place pour une réponse aux engrais et le raccourcissement de leur taille. Les augmentations des biomasses et de rendements en grains observées sur tous les sols désinfectés, montrent qu'il existe dans ces derniers un grand nombre de microorganismes qui pourraient détourner des composés hydrocarbonés de la plante hôte, par la production et/ou l'induction des régulateurs de croissance. Ces substances pourraient être à l'origine de la diminution des rendements.

L'absence de corrélations entre les taux de mycorhization et les rendements en biomasses et en graines témoigne que les bénéfices de la symbiose au niveau de la plante passent par des phénomènes qualitatifs liés au fonctionnement symbiotique, que confirment les résultats sur la viabilité des graines. Cet aspect qualitatif est particulièrement important pour la survie des espèces en conditions naturelles, mais aussi pour la production d'aliments de qualité pour les hommes et les animaux.

Avec l'apport d'un inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup>, d'une manière générale les variétés testées atteignent leur pic de mycorhization lors de la mise en place des épis. Et cet inoculum semble maintenir de fort taux de mycorhization à maturité des épis. L'effet mycorhizien sur les rendements en graines est beaucoup plus accentué sur le nombre de grains produits que sur leur poids et leur remplissage.

## **Discussion générale et perspective**

Au cours de notre travail de thèse nous avons pu mettre en place une base de données concernant 225 variétés de blés anciens de la collection de l'Association « Graines de Noé ». Les critères retenus, à savoir : nom de la variété, genre, espèce et autorité, date d'arrivée à la ferme, numéro d'identification à la ferme d'arrivée et de stockage, condition de conservation, pays et sol d'origine, descriptions du phénotype, caractéristiques physicochimiques du sol de culture d'origine, géolocalisation des parcelles de culture des variétés et de l'écosystème, le sol de culture, dates de campagne de cultures, dernière campagne de culture, observations morphologiques, séquence d'ADN, mycorhization, remarques divers et *in fine* description des divers outils de récoltes de données. L'ajout de l'incorporation d'images et de documents apportant des informations complémentaires ont permis de regrouper dans un seul document un ensemble important d'informations pour cette catégorie de blés. Par comparaison à d'autres bases de données telles que Agropolis Museum ([http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/blés\\_vilmorin/table\\_espece.php](http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/blés_vilmorin/table_espece.php)) et Moulin Chauffour ([http://moulin.chauffour.free.fr/autour\\_des\\_moissons/varietes\\_de\\_ble.htm](http://moulin.chauffour.free.fr/autour_des_moissons/varietes_de_ble.htm)), la nôtre présente des informations que lui sont spécifiques, notamment l'aptitude à mycorhizer, une gamme de variétés de croisement propres à l'association « Graines de Noé » et surtout des informations basées sur des observations de plusieurs campagnes de culture de chacune de ces variétés effectuées à la ferme Ronot. Ce dernier aspect nous paraît particulièrement important car il offre aux producteurs de blé utilisant ces variétés des informations fort utiles pour la conduite des cultures. Il conviendrait maintenant de poursuivre les analyses de l'aptitude à mycorhizer sur le reste des variétés de la collection et mettre en place un système de mise à jour régulière par les utilisateurs dans un système centralisé de l'utilisation de la base de données.

Parallèlement à la mise en place de la base de données nous avons caractérisé en serre et/ou au champ l'aptitude à mycorhizer de 61 variétés de blés inscrites. Pendant ce travail 53 variétés anciennes de blé, utilisées en agriculture biologique, ont été criblées pour leur aptitude à mycorhizer en présence d'une population naturelle de CMA. Ces travaux ont révélé l'existence d'une variabilité dans leur aptitude à former des mycorhizes avec les CMA naturellement présents dans un champ transformé en prairie depuis 8 ans. Un tel effet variétal du blé dans le développement de la symbiose mycorhizienne a été observé précédemment chez des nombreuses variétés modernes sélectionnées pour une agriculture intensive (Bertheau *et al.*, 1980 ; Azcon et Ocampo, 1981 ; Young *et al.*, 1985 ; Hetrick *et al.*, 1992 ; Xavier et Germida, 1998 ; Zhu *et al.*, 2001 ; Singh *et al.*, 2012), mais très peu de données

existent pour les variétés anciennes (Zhu *et al.*, 2001 ; Friedel *et al.*, 2008). La présente étude des à un plus grand nombre de variétés anciennes du blé montre clairement que cet effet variétal varie en fonction du stade de développement végétatif. Il était particulièrement important en début de végétation au stade tallage où pour seulement 5 variétés l'ensemble des plantes analysées étaient mycorhizées, alors qu'à ce même stade 17 variétés n'étaient pas encore mycorhizées et les autres 21 variétés montraient des valeurs intermédiaires de mycorhization. Toutes ces différences s'estompent au stade Epiaison, quand toutes les plantes de chaque variété sont mycorhizées, puis réapparaissent pour 19 variétés au stade Maturité des épis. Les composantes du rendement de blé commencent à se développer dès le stade six feuilles (Hay, 1999). De ce fait les variétés du blé qui se mycorhizent tardivement pourraient être limitées dans leur possibilité de bénéficier des avantages de la symbiose mycorhizienne (Singh *et al.*, 2012).

Le travail effectué en serre sur des variétés sélectionnées sur le criblage réalisé au champ souligne l'importance du génotype de la plante- hôte dans le développement et l'expression de la symbiose MA. En effet, les deux études approfondies réalisées en serre avec 10 variétés, choisies parmi les 53 observées au champ, et cultivées sur sol désinfecté ou non ont confirmé l'existence d'un effet variétal, mais ont aussi montré que son amplitude dépendait des conditions de culture et du nombre de propagules fongiques présents dans un sol. L'effet variétal était plus marqué chez les 8 variétés cultivées sur sol désinfecté et inoculées avec un inoculum de laboratoire que chez les 4 variétés cultivées sur sol non désinfecté et non inoculées. Des effets similaires ont été montré par Hetrick *et al.*, 1992. L'effet variétal pourrait être lié à des différences dans la capacité d'absorption des plantes mycorhizées de certains éléments du sol connus pour être améliorés par la symbiose mycorhizienne comme le phosphore (P). Azcon et Ocampo (1981) ont fait des observations allant dans ce sens avec des variétés différentes de blé. Ainsi l'expression de la symbiose dépendrait du génotype de la plante hôte et de celui du champignon considéré. Dans une approche d'utilisation des mycorhizes pour réduire les effets de stress salins sur le rendement du blé et l'absorption d'éléments nutritifs, Daei *et al.*, 2009 avaient déjà montré que dans l'optique d'optimiser l'utilisation des mycorhizes, il est important de choisir la bonne combinaison plante champignon.

L'amélioration en serre des différents aspects du développement végétal des blés inoculés ou non est surtout marquée lorsqu'ils sont cultivés sur sol désinfecté. Cela semble

indiquer que les sols d'origine pourraient contenir des microorganismes néfastes à la croissance du blé ou tout simplement susceptibles de détourner à leur profit des composés hydrocarbonés de la plante hôte et de ce fait être à l'origine de la diminution des rendements. Cela avait déjà été souligné par une étude canadienne sur les liens entre le choix d'un cultivar de blé, la qualité de la panification et les communautés microbiennes du sol (Rapport final de recherche W2008-35 de Nelson *et al* 2008 du Centre d'Agriculture Biologique du Canada CABC)

L'absence de corrélations entre les taux de mycorhization et les rendements en biomasses et en graines, observé sur les cultures en serre, témoigne que les bénéfices de la symbiose au niveau de la plante devraient passer par des phénomènes qualitatifs liés au fonctionnement symbiotique. Cela est confirmé par les résultats sur la viabilité des graines. Cet aspect qualitatif de l'effet mycorhizien est particulièrement important pour la survie des espèces en conditions naturelles, mais aussi pour la production d'aliments de qualité pour les hommes et les animaux. A noter qu'avec l'apport de l'inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup>, les variétés testées atteignent, généralement, leur pic de mycorhization lors de la mise en place des épis.

Une autre donnée importante ressort de ces travaux, à savoir que l'amplitude de cet effet variétal d'aptitude à former des mycorhizes est aussi dépendante des conditions de culture et du nombre de propagules fongiques présent dans un sol, comme cela avait déjà été montré dans le Rapport de recherche intérimaire E2008-46 de Hammermeister et MacKenzie CABC, (2008). En effet, l'étude en serre a montré que des blés ne se mycorhizant pas ou très peu au stade tallage au champ, étaient tous bien mycorhizés dès ce stade en conditions contrôlées. De plus, l'apport d'un inoculum commercial (SYMBIVIT<sup>®</sup>) contenant six CMA a augmenté l'homogénéité des niveaux de mycorhization, qui est restée comprise entre 25% et 55%. Bien que des recherches ultérieures soient nécessaires, basées notamment sur une traçabilité plus fine des CMA, ces résultats apportent néanmoins un éclairage nouveau sur les facteurs qui peuvent conditionner l'aptitude des blés à mycorhizer.

En serre, l'apport d'un inoculum exogène améliore non seulement le niveau de mycorhization des blés, mais aussi différents aspects du développement végétal selon la variété considérée. L'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> induit précocement, dès le tallage, des effets positifs sur la biomasse des 10 variétés. Par rapport aux blés mycorhizés avec les CMA

indigènes, des augmentations sensibles sont observées tant au niveau de la biomasse aérienne que racinaire, allant respectivement de 69,4% à 224,5% et de 50,8% à 661,1%. Cependant, l'effet positif sur la biomasse racinaire s'estompe lors du stade Epiaison pour les variétés Alauda, Rouge d'Alsace, Rouge d'Altkirch, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc, et au stade Maturation des épis chez la variété Blanc de Lorraine. Les valeurs du rapport biomasse racinaire/biomasse aérienne varient très fortement en fonction du stade de développement. Au stade tallage, seule la variété Poulard d'Australie présente des valeurs inférieures chez les plantes inoculées avec l'inoculum commercial par rapport à celles des blés mycorhizés par les CMA indigènes. Au Stade Epiaison, cinq variétés (Alauda, Rouge d'Alsace, Blé de la Saône, Rouge du Roc et Blé autrichien) sont dans ce cas de figure. Au Stade Maturité des épis, comme au stade tallage seul une variété (Blanc de Lorraine) présente des valeurs inférieures. Ce qui conforte les valeurs de mycorhization plus importantes au stade phénologique Epiaison. Des observations similaires ont aussi été faites par Hetrick *et al.* (1992) après apport d'un inoculum produit au laboratoire aux différentes variétés de blé cultivées en serre. La baisse du rapport racine/partie aérienne, obtenue ici avec un inoculum commercial, est considérée traduire une plus grande efficacité des racines mycorhizées (Nemec, 1978).

Les effets de l'inoculum commercial SYMBIVIT<sup>®</sup> sur la production de graines en serre varient aussi fortement d'une variété de blé à l'autre selon qu'on considère le nombre de graines produites, leur poids ou encore leur remplissage. Ainsi chez les variétés Rouge d'Altkirch et Blé de la Saône, le nombre de graines par plante, leur poids et leur remplissage sont tous augmentés (respectivement de 24,4%, 26,2% et 4,2% pour le Rouge d'Altkirch et de 28,5%, 51,2% et 9,3% pour le Blé de la Saône). Pour les autres variétés, on observe une augmentation seulement du nombre et de leur poids chez les variétés Alauda et Poulard d'Australie (respectivement de 24,2% et 35,5% pour Alauda et de 32,2% et 27,6% pour le Poulard d'Australie). Une augmentation du nombre pour la variété Rouge d'Alsace (52,9%), du poids de remplissage chez 21, Rouge du Roc et Blanc de Lorraine, respectivement de 2,4%, 7,1% et 34,1%. Des effets similaires d'un apport de CMA exogènes sur le nombre de grains (Singh *et al.*, 2012) et sur le poids des graines (Trouvelot *et al.*, 1982) ont déjà été constatés chez des variétés différentes aussi cultivés en serre. Par contre, l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> a un effet inhibiteur sur le nombre de graines (Blé autrichien et Rouge du Roc), sur le poids des graines (Rouge d'Alsace, Rouge du Roc, Blé autrichien et Rouge de Bordeaux) et sur le remplissage des graines (Rouge d'Alsace, Blé autrichien et Rouge de

Bordeaux). L'ensemble de ces résultats obtenus en serre souligne l'importance du choix variétal pour une utilisation efficace des inocula mycorrhizogènes. Celle-ci a été confirmée au champ, dans des conditions de production d'agriculture biologique, où l'inoculation avec du SYMBIVIT<sup>®</sup> a augmenté sensiblement le rendement en graines de trois des quatre variétés anciennes du blé, à savoir Blé de la Saône (+52,7%), Blanc de Lorraine (+6,3%) et le Blé autrichien (+18,4%). De plus, le test au TTC de viabilité des graines produites au champ montre qu'une meilleure mycorhization augmente, chez les quatre variétés testées, le pourcentage de graines de meilleure qualité (de 17,3 à 57,9%) tout en diminuant le pourcentage des graines de mauvaise qualité (de 50 à 80%). Le taux de germination des graines produits au champ confirme les résultats obtenus avec le test au TTC: les graines issues de plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> montrent un pourcentage de germination toujours sensiblement supérieur, à savoir +34,8% pour le Blanc de Lorraine, +17,1% pour le Blé de la Saône, +13,2 pour le Blé autrichien et +27,3% pour le Rouge du Roc.

Les analyses de la teneur en phosphore des graines de blé produites au champ font apparaître encore une fois l'existence d'une variabilité dans l'effet mycorhizien entre les variétés anciennes. L'enrichissement en phosphore (+5,6%) des graines chez la variété Blanc de Lorraine inoculée avec SYMBIVIT<sup>®</sup> confortent les résultats obtenus sur la viabilité et la germination des graines. Par contre, l'apport d'un inoculum exogène n'a pas modifié le contenu des graines en phosphore des variétés Blé de la Saône et Rouge du Roc, et l'a baissé chez la variété Blé autrichien. Il n'y a donc pas de corrélation entre le contenu en phosphore des graines et l'effet mycorhizien au niveau croissance ou rendement des variétés. De même, Hildermann *et al.* (2010) Hetrick *et al.* (1996) et Azcon et Ocampo (1981) avec des variétés de blé différentes de celles que nous avons utilisées n'ont pas pu corrélérer la concentration de phosphore dans les tissus des plantes avec leur niveau de dépendance mycorhizienne. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés chez des agrumes (Mehraveran, 1977; Menge *et al.*, 1978; Nemec, 1978), où la concentration de phosphore des tissus végétaux a été corrélée avec la dépendance mycorhizienne.

A notre connaissance, il n'existe pas dans la littérature des études décrivant les effets des CMA sur la viabilité et le pouvoir de germination des graines produites par du blé mycorhizé. De même, nous reportons pour la première fois les effets d'un inoculum commercial sur le rendement et la qualité des graines de variétés anciennes du blé. Le nombre de propagules de CMA capable de générer la symbiose mycorhizienne dans les parcelles

avant solarisation a été estimé à environ 2200 propagules par kg de terre. Compte tenu du pouvoir mycorhizogène de l'inoculum leur nombre a dû être multiplié environ 100x suite à l'inoculation. Il serait intéressant de préciser le seuil du nombre de propagules de CMA nécessaire à l'expression bénéfique de la symbiose chez les variétés du blé utilisées en agriculture biologique. Si on rapporte à l'hectare (ha) le rendement obtenu lors de notre étude, les plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> donnent des valeurs allant de 17,1 q/ha (Blé de la Saône) à 50,1 q/ha (Blé autrichien) contre respectivement 11,17 q/ha à 42,3 q/ha pour les plantes non inoculées. Pour les variétés Blanc de Lorraine et Rouge du Roc, les valeurs sont respectivement de 38,5 q/ha et 26,5 q/ha pour les plantes inoculées et de 36,2 q/ha à 27,3 q/ha chez les plantes non inoculées. Le système de culture utilisé était très proche des pratiques de l'agriculture biologique, sans apport d'intrants chimiques de synthèse, avec un engrais vert et dans un champ n'ayant pas reçu de composés chimiques de synthèse depuis 2 ans. Les rendements estimés sont, à l'exception du Blé de Saône, tous supérieurs à ceux généralement obtenus en France pour ces variétés en production biologique (Bernard Ronot, Graines de Noé, communication personnelle). Le plus faible rendement du Blé de la Saône, environ la moitié de celui habituellement obtenu (Bernard Ronot, Graines de Noé, communication personnelle), s'explique par le développement de la carie du blé, constatée à la récolte. Malgré l'attaque de *Tilletia caries*, agent de la carie, les plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> ont mieux résisté et la perte due à la maladie a été moins ressentie (-24,6% pour les plantes inoculées contre -50,6% pour les plantes non inoculées). A noter que l'effet mycorhizien important chez le Blé autrichien (+18,4%), la variété ancienne la plus productive, devrait attirer l'intérêt des producteurs en agriculture biologique pour la symbiose mycorhizienne.



## **Références Bibliographiques**

ABBOTT, L.K., & ROBSON, A.D. 1982. Infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Crop and Pasture Science*, 33(6), 1049-1059.

ABBOTT, L.K., & ROBSON, A.D. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, ecosystems & environment*, 35(2), 121-150.

AKIYAMA K., MATSUZAKI, K., & HAYASHI, H. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435: 824-827.

ALOUI, A., RECORBET, G., GOLLOTTE, A., ROBERT, F., VALOT, B., GIANINAZZI-PEARSON, V., ASCHI-SMITI, S., & DUMAS-GAUDOT, E. 2009 On the mechanisms of cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* by arbuscular mycorrhizal symbiosis: a root proteomic study. *Proteomics*, 9: 420-433.

AN, G.H., KOBAYASHI, S., ENOKI, H., SONOBE, K., MURAKI, M., KARASAWA, T., & EZAW, T. 2010. How does arbuscular mycorrhizal colonization vary with host plant genotype? An example based on maize (*Zea mays*) germplasms. *Plant and Soil*, 327 (1–2): 441–453. doi:10.1007/s11104-009-0073-3.

AROCA, R., VERNIERI, P., & RUIZ-LOZANO, J.M. 2008. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting re-sponses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *Journal of Experimental Botany*, 59(8): 2029–2041. doi:10.1093/jxb/ern057. PMID: 18469324.

ARSENIUK, E., FOREMSKA, E., & CHELKOWSKI, J. 1999. Fusarium head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology*, 147(10), 577-590.

ARSENIUK, E., GORAL, T., & CZEMBOR, H.J. 1993. Reaction of triticale, wheat and rye accessions to graminaceous Fusarium spp. infection at the seedling and adult plant growth stages. *Euphytica*, 70(3), 175-183.

ATUL-NAYYARA, A., HAMEL, C., HANSON, K., & GERMIDA, J. 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, 19(4): 239–246. doi:10.1007/s00572-008-0215-0. PMID:19101737.

AUBERTO, J.N., BARBIER, J.M. A., CARPENTIER, A., GRIL, J.J., GUICHARD, L., LUCAS, P., SAVARY, S., SAVANI, I., & VOLTZ, M., (éds.). 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France) 64 p.

AUGE, R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11(1), 3-42.

AZCON-AGUILAR, C., & BAREA, J.M. 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens: an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.

AZCÓN, R., & OCAMPO, J.A. 1981. Factors affecting the vesicular arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytologist*, 87(4): 677–685. doi:10.1111/j.1469-8137. 1981.tb01702.x.

BAGO, B., SHACHAR-HILL, Y., & PFEFFER, P.E. 2000. Dissecting carbon pathways in arbuscular mycorrhizas with NMR spectroscopy. In: Podila GK, Douds DD (eds). *Current advances in mycorrhizae research*, APS, St. Paul, USA, pp 111–126

BALTRUSCHAT, H., & SCHÖNBECK, F. 1972. Untersuchungen über den Einfluß der endotrophen Mycorrhiza auf die Chlamydosporenbildung von *Thielaviopsis basicola* in Tabakwurzeln. *Journal of Phytopathology*, 74(4), 358-361.

BAREA, J.M., & AZCÓN-AGUILAR, C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances Agronomy*, 36: 1–54. doi:10.1016/S0065-2113(08)60351-X.

BAREA, J.M., POZO, M.J., AZCON, R., & AZCON-AGUILAR, C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56: 1761-1778.

BÄRTSCHI, H., GIANINAZZI-PEARSON, V., & VEGH, I. 1981. Vesicular arbuscular mycorrhiza formation and root rot disease *Phytophthora cinnamomi* development in *Chamaecyparis lawsonia*. *Phytopathologische Zeitschrift*, 102:213–218.

BELAID, D. 1986. Aspect de la céréaliculture Algérienne, Ed.O.P.U, 217 p.

BELAID, D. 1987. Etude de la fertilisation azotée et phosphatée d'une variété de blé dur (HEDBA) en condition de déficit hydrique. Thèse. Mag. INA, El-HARRACH, 109 p.

BENHAMOU, N., LAFONTAINE, P.J., & NICOLE, M. 1994. Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with Chitosan. *Phytopathology*, 84: 1432-1444.

BERTHEAU, Y., GIANINAZZI-PEARSON, V., GIANINAZZI, S. 1980. Développement et expression de l'association endomycorhizienne chez le blé. I. Mise en évidence d'un effet variétal. *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 30, 67-68.

BESSERER, A., PUECH-PAGES, V., KIEFER, P., GOMEZ-ROLDAN, V., JAUNEAU, A., ROY, S., PORTAIS, J.C., ROUX, C., BECARD, G., & SEJALON-DELMAS, N. 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology*, 4: e226.

BETHLENFALVAY, G.J., & LINDERMAN, R.G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress.

BOLDT, K., PÖRS, Y., HAUPT, B., BITTERLICH, M., KÜHN, C., GRIMM, B., & FRANKEN, P. 2011. Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato arbuscular mycorrhiza. *Journal of Plant Physiology*, 168: 1256-1263.

BONFANTE, P., & PERROTTO, S. 1995. Tansley Review No. 82 Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist*, 130: 3-21.

BONNEUIL, C., THOMAS, F., & PETITJEAN, O. 2012. Semences : une histoire politique. Ed Charles Léopold Meyer, ISBN 978-2-84377-165-1.213p

BOTTALICO, A., & PERRONE, G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108(7), 611-624.

BOWLER, C., & FLUHR, R. 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. *Trends in Plant Science*, 5: 241-246.

BUCHER, M., 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist*, 173: 11-26.

CARON, M., FORTIN, J.A., & RICHARD, C. 1986. Effect of inoculation sequence on the interaction between *Glomus intraradices* and *Fusarium oxysporum* f. sp. radicis- lycopersici in tomatoes. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 64: 552-556.

CAUSSANEL, J.P. 1996 – Concurrence, compétition et nuisibilité des mauvaises herbes. 16ème Conférence du Coloma sur la lutte contre les mauvaises herbes. *Phytoma*, 484 : 21-24.

CHALOT, M., BLAUDEZ, D., & BRUN, A. 2006. Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends in Plant Science*, 11: 263-266.

CORDIER, C., POZO, M. J., BAREA, J. M., GIANINAZZI, S., & GIANINAZZI-PEARSON, V. 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11: 1017-1028.

COUVREUR, F. 1981. La culture du blé se raisonne. Cultivar juin, pp 39-41.

DAVIS, E.A., & YOUNG J.L. 1985. Endomycorrhizal colonization of glass-house grown wheat as influenced by fertilizer salts when banded or soil mixed. *Canadian Journal of Botany*, 63:1196-1203.

DAVIS, R.M., & MENGE, J.A. 1980. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Phytophthora* root rot of citrus. *Phytopathology*, 70: 447-452.

de la NOVAL, B., PEREZ, E., MARTINEZ, B., LEON, O., MARTINEZ-GALLARDO, N., & DELANO- FRIER, J. 2007. Exogenous systemin has a contrasting effect on disease resistance in mycorrhizal tomato (*Solanum lycopersicum*) plants infected with necrotrophic or hemibiotrophic pathogens. *Mycorrhiza*, 17: 449-460.

DEHNE, H.W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, 72: 1115-1119.

DEHNE, H.W., & SCHÖNBECK, F. 1979. Untersuchungen zum Einfluss der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. *Journal of Phytopathology*, 95: 105-110.

DELAUNOIS, B., & SANCHEZ, J.M. 2013. Conférence dans le cadre de la journée à thème de Lomme-Lille.

DODD, J.C., & THOMSON, B.D. 1994. The screening and selection of inoculant arbuscular-mycorrhizal and ectomycorrhizal fungi. *Plant and soil*, 159(1), 149-158.

DUMAS-GAUDOT, E., GOLLOTTE, A., CORDIER, C., GIANINAZZI, S. & GIANINAZZI-PEARSON, V. 2000. Modulation of host defense systems. In: Kapulnik Y., Douds D. D. Jr. (eds) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academy Publishers: 173-200.

ELSEN, A., BAIMEY, H., SWENNEN, R., & DE WAELE, D. 2003. Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa* spp.) differing in nematode susceptibility. *Plant and Soil*, 256: 303-313.

ESSIANE ONDO, O. 2010. *Etude du potentiel mycorrhizotrophe de différentes variétés de blé et impact sur la qualité du grain*. Mémoire de master. Université de Bourgogne. Dijon, France. 35 pages

FAO., 2010. Global Forest Resources Assessment 2010 Main Report. FAO.

FARMER, M.J., Li, X., FENG, G., ZHAO, B., CHATAGNIER, O., GIANINAZZI, S., GIANINAZZI-PEARSON, V., & VAN TUINEN, D. 2007. Molecular monitoring of field-inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China. *Applied Soil Ecology*, 35, 599-609.

FITTER, A.H. 2004. Magnolioid roots hairs, architecture and mycorrhizal dependency. *New Phytologist*, 164(1): 15–16. doi:10. 1111/j.1469-8137.2004.01193.x.

FIXEN, P.E., BRUULSEMA, T.W., JENSEN, T.L., MIKKELSEN, R., MURREL, T.S., PHILLIPS, S.B., RUND, Q., & MIKE STEWART, W. 2010. The fertility of North American soils. *Better Crops Plant Food*, 94(4): 6–8.

FRANK, A. 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft*, 3 : 128-1 45.

FRIEDEL, J.K., JAKUPAJ, S., GOLLNER, M., HRBEK, R., FLAMM, C., OBERFORSTER, M., ZECHNER, E., KINASTBERGER, A., & LÖSCHENBERGER, F. 2008. Mycorrhization of winter wheat cultivars in organic farming Poster at: Cultivating the Future Based on Science: 2nd Conference of the International Society of Organic Agriculture Research ISOFAR, Modena, Italy, June 18-20, 2008.

FRITZ, M., JAKOBSEN, I., LYNGKJAER, M.F., THORDAL-CHRISTENSEN, H., & PONS-KUHNEMANN, J. 2006. Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. *Mycorrhiza*, 16: 413-419.

GALLOU, A., LUCERO MOSQUERA, H.P., CRANENBROUCK, S., SUAREZ, J.P., & DECLERCK, S. 2011b. Mycorrhiza induced resistance in potato plantlets challenged by *Phytophthora infestans*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 76: 20-26.

GARCIA-GARRIDO, J.M., & OCAMPO, J.A. 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1377-1386.

GENRE, A., CHABAUD, M., FACCIO, A., BARKER, D.G., & BONFANTE, P. 2008. Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. *The Plant Cell*, 20: 1407-1420.

GENRE, A., CHABAUD, M., TIMMERS, T., BONFANTE, P., & BARKER, D.G. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *The Plant Cell*, 17: 3489-3499.

GERNNS, H., ALTEN, H., & POEHLING, H.M. 2001. Arbuscular mycorrhiza increased the activity of a biotrophic leaf pathogen - is a compensation possible?. *Mycorrhiza*, 11: 237-243.

GIANINAZZI-PEARSON, V., & DENARIE, J. 1997. Red carpet genetic programmes for root endosymbioses. *Trends in Plant Science*, 2: 371-372.

GIANINAZZI-PEARSON, V., DUMAS-GAUDOT, E., GOLLOTTE, A., TAHIRI-ALAOUI, A., & GIANINAZZI, S. 1996. Cellular and molecular defence-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 133: 45-57.

GIANINAZZI, S., & GIANINAZZI-PEARSON, V. 1990. Cellular interactions in vesicular arbuscular (VA) endomycorrhizae. The host's point of view. In: Nardon P., Gianinazzi-Pearson V., Grenier A. M., Margulis L., Smith D. C. (eds) *Endocytobiology*. INRA Press: 83-90.

GIANINAZZI, S., GIANINAZZI-PEARSON, V., & TROUVELOT, A. 1989. Potentialities and procedures for the use of endomycorrhizas with special emphasis on high value crops. *Biotechnology of fungi for improving plant growth*, (16), 41.

GIANINAZZI, S., GOLLOTTE, A., BINET, M.N., VAN TUINEN, D., REDECKER, D., & WIPF, D., 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20(8): 519–530. doi: 10.1007/s00572-010-0333-3. PMID: 20697748.

GIOVANNETTI, M., SBRANA, C., AVIO, L., CITERNESI, A.S., & LOGI, C. 1993. Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. *The New Phytologist*, 125: 587-593.

GONZOLEZ-CHAVEZ, C., D'HAEN, J., VANGRONSVELD, J., & DODD, J.C. 2002. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil*, 240: 287-297.

GOSWAMI, R.S., & KISTLER, H.C. 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*, 5(6), 515-525.



GOVINDARAJULU, M., PFEFFER, P.E., JIN, H., ABUBAKER, J., DOUDS, D.D., ALLEN, J.W., BUCKING, H., LAMMERS, P.J., & SHACHAR-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 435: 819-823.

GRABE D.F., 1970. Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds: Contribution no. 29. *Association of Official Seeds Analysts*, 62 p.

GRENY A., 1973. Etudes anotamo-morphologiques des endomycorhizes constituées par le maïs, l'avoine, le blé, l'orge et diverses graminées prairiales et adventices. Mémoire d'Ingénieure. Université de Rouen, Rouen, France 248p.

GRIFFON. M., 2013. Qu'est ce que l'agriculture écologiquement intensive?. Editions Quae.

GÜTHER, M., BALESTRINI, R., HANNAH, M., HE, J., UDVARDI, M.K., & BONFANTE, P. 2009. Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytologist*, 182:200–212.

HALLETT P.D., FEENEY D.S., BENGOUGH A.G., RILLING M.C., SCIM-GEOUR C.M & YOUNG I.M., 2009. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and Soil*, 314(1–2): 183–196. doi:10.1007/s11104-008-9717-y.

HAMMERMEISTER, A., & MACKENZIE, J., 2008. Essais de variétés et de fertilisation de blé de printemps dans les maritimes. Rapport de recherche intérimaire E2008-46 *Centre d'Agriculture Biologique du Canada*.

HASELWANDTER, K., & BOWEN, G.D., 1996. Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. *Forest Ecology Management*, 81(1–3): 1–17. doi:10.1016/0378-1127(95)03661-X.

HAUSE, B., & FESTER, T. 2005. Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta*, 221: 184-196.

HAUSE, B., MROSK, C., ISAYENKOV, S., & STRACK, D. 2007. Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. *Phytochemistry*, 68: 101-110.

HAWKINS, H.J., JOHANSEN, A., & GEORGE, E. 2000. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 226: 275-285.

HAY, R.K.M. 1999. Physiological control of growth and yield in wheat: analysis and synthesis. In Crop yield. Physiological processes. *Edited by D.L. Smith and C. Hamel. Springer, Berlin.* pp. 1–38.

HAYEK, S. 2012. *Mycorrhiza-induced resistance against Thielaviopsis basicola in the ornamental crop Petunia hybrida*. Doctoral dissertation, Université de Bourgogne Dijon, France. 135 pages.

HELBER, N., WIPPEL, K., SAUER, N., SCHAARSCHMIDT, S., HAUSE, B., & REQUENA, N. 2011. A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus sp is crucial for the symbiotic relationship with plants. *The Plant Cell Online*, 23(10), 3812-3823.

HERRERA-MEDINA, M.J., STEINKELLNER, S., VIERHEILIG, H., OCAMPO BOTE, J.A., & GARCIA GARRIDO, J.M. 2007. Absciscic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 175: 554-564.

HETRICK, B.A.D., WILSON G.W.T & COX T.S., 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Canadian Journal of Botany* 70(10): 2032–2040. doi:10.1139/b92-253.

HETRICK, B.A.D., WILSON, G.W.T & TODD, T.C., 1996. Mycorrhizal response in wheat cultivars: relationship to phosphorus. *Canadian Journal of Botany*, 74(1): 19–25. doi:10.1139/b96-003.

HETRICK, B.A.D., WILSON, G.W.T., GILL, B.S & COX, T.S., 1995. Chromosome location of mycorrhizal responsive genes in wheat. *Canadian Journal of Botany* 73(6): 891–897. doi:10.1139/b95-097.

HILDERMANN, I., MESSMER, M., DUBOIS, D., BOLLER, T., WIEMKE, N A., & MADER, P., 2010. Nutrient use efficiency and arbuscular mycorrhizal root colonisation of

winter wheat cultivars in different farming systems of the DOK long-term trial, *J. Science of Food and Agriculture* 90, 2027–2038.

HUANG, Z., HE, C.X., HE, Z.Q., ZOU, Z.R., & ZHANG, Z.B. 2010. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxyradical scavenging system of tomato under salt tolerance. *Agricultural Sciences in China*, 9: 1150-1159.

IOOS, R., BELHADJ, A., & MENEZ, M. 2004. Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002. *Mycopathologia*, 158(3), 351-362.

JANOUSHKOVÁ, M., & PAVLÍKOVÁ, D., 2010. Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium. *Plant and Soil*, 332(1–2): 511–520. doi:10. 1007/s11104-010-0317-2.

JAVOID, A., 2009. Arbuscular mycorrhizal mediated nutrition in plants. *Journal of Plant Nutrition* 32(10): 1595–1618. doi:10.1080/ 01904160903150875.

JEFFRIES, P., & BAREA, J.M. (2001). Arbuscular mycorrhiza a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In *Fungal Associations* (pp. 95-113). *Springer Berlin Heidelberg*.

JEFFRIES, P., GIANINAZZI, S., PEROTTO, S., TURNAU, K., & BAREA, J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 37: 1-16.

KABIR, Z., & KOIDE, R.T. 2002. Effect of autumn and winter mycorrhizal cover crops on soil properties, nutrient uptake and yield of sweet corn in Pennsylvania, USA. *Plant and Soil*, 238: 205-215.

KAEPLER, S.M., PARKE, J.L., MUELER, S.M., SENIOR, L., STUBER, C., & TRACY, W.F. 2000. Variation among maize inbred lines and detection of quantitative trait loci for growth at low phosphorus and responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi. *Crop Science* 40 (2): 358–364. doi:10.2135/cropsci2000.402358x.

KHAOSAAD, T., VIERHEILIG, H., NELL, M., ZITTERL-EGLESEER, K., NOVAK, J. 2006. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16: 443-446.

KLOPPHOLZ, S., KUHN, H., & REQUENA, N. 2011. A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. *Current Biology*, 21: 1204-1209.

KOSUTA, S., CHABAUD, M., LOUGNON, G., GOUGH, C., DENARIE, J., BARKER, D. G., & BECARD, G. 2003. A diffusible factor from arbuscular fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 131: 952-962.

KRISHNA, K.R., & BAGYARAJ, D.J. 1983. Interaction between *Glomus fasciculatum* and *Sclerotium rolfsii* in peanut. *Canadian Journal of Botany*, 61: 2349-2351.

KUNKEL, B.N., & BROOKS, D.M. 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 325-331.

LI, H.Y., YANG, G.D., SHU, H.R., YANG, Y.T., YE, B.X. & NISHIDA, I. 2006. Colonization by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* induces a defense response against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the grapevine (*Vitis amurensis* Rupr.), which includes transcriptional activation of the class III chitinase gene VCH3. *Plant and Cell Physiology*, 47: 154-163.

LINGUA, G., D'AGOSTINO, G., MASSA, N., ANTOSIANO, M., & BERTA, G. 2002. Mycorrhiza- induced differential response to a yellows disease in tomato. *Mycorrhiza*, 12: 191- 198.

LIU, A., HAMEL, C., ELMI, A., COSTA, C., MA, B.L & SMITH, D.L., 2002. Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Canadian Journal of Soil Science*, 82(3): 272–278. doi:10.4141/S01-022.

LIU, A., HAMEL, C., HAMILTON, R.I., & SMITH, D.L., 2000a. Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf

architecture as influenced by soil N and P levels. *Plant and Soil*, 221(2): 157–166. doi:10.1023/A:1004777821422.

LIU, A., HAMEL, C., HAMILTON, R.I., MA, B.L., & SMITH, D.L. 2000b. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, 9(6): 331–336. doi:10.1007/s005720050277.

LIU, J., MALDONADO-MENDOZA, I., LOPEZ-MEYER, M., CHEUNG, F., TOWN, C.D., & HARRISON, M.J. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *The Plant Journal*, 50(3): 529–544. doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03069.x. PMID:17419842.

LOUE, A. 1982. Le potassium et les céréales Dossier K<sub>2</sub>O n°02, pp 1-41.

LOVATO, P.E., GIANINAZZI-PEARSON, V., TROUVELOT, A., GIANINAZZI, S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micopropagation. *Advances in Horticultural Science*, 10, 46-52

LUDWIG-MÜLLER, J. 2000. Hormonal balance in plants during colonization by mycorrhizal fungi. In Kapulnik Y., Douds D., (eds) *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam: 263–283.

MARSCHNER, P., SOLAMANN, Z., & RENGEL, Z. 2005. Growth, phosphorus uptake and rhizosphere microbial-community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168:343 – 351.

MARTIN PREVEL, P. 1984. L'analyse végétal dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérés et tropicales pp 653-667

MASON, H.E., & SPANER, D., 2006. Competitive ability of wheat in conventional and organic management systems: A review of the literature. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(2) 333–343.

McGONIGLE, T.P., & Miller, M.H. 1993. Mycorrhizal development and phosphorus absorption in maize under conventional and reduced tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 57(4), 1002-1006.

- MEDING, S.M., & ZASOSKI, R.J. 2008. Hyphal-mediated transfer of nitrate, arsenic, cesium, rubidium, and strontium between arbuscular mycorrhizal forbs and grasses from a California oak woodland. *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 126-134.
- MEHRAVERAN, H., 1977. *Mycorrhizal dependency of six citrus cultivars*. Ph. D. thesis. University of Illinois.
- MEKLICH, A. 1983. Contribution a l'établissement de la fertilisation azotée de blé d'hiver dans le haut Chélif, Thèse. Mag. INA, El- HARRACH, 81 p.
- MENGE, J.A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Canadian Journal of Botany*, 61(3), 1015-1024.
- MENGE, J.A. 1984. Inoculum production. In: VA Mycorrhiza (eds Powell, C.L. & Bagyaraj, D.J.). *CRC Press, Boca Raton, FL*, pp. 187–203.
- MENGE, J.A., JOHSON, E.L.V., & PLATT, R.G. 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytologist*, 81, 553-559.
- MILLER, R.M., & JASROW, J.D. 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biology & Biochemistry*, 22: 579-584.
- MOSSE, B. 1956. Fructifications of an Endogone species causing endotrophic mycorrhiza in fruit plants. *Annals of Botany*, 20(2), 349-362.
- NELSON, A., SPANER, D., & FRICK, B. 2008. Les liens entre le choix d'un cultivar de blé, la qualité de la panification et les communautés microbiennes du sol. Rapport final de recherche W2008-35. *Centre d'Agriculture Biologique du Canada*.
- NEMEC, S. 1978. Response of six citrus rootstocks to three species of Glomus, a mycorrhizal fungus. *Proceeding of Florida Stale Horticulture Society*, 91, 10-14.
- NEUMANN, E., & GEORGE, E. 2005. Does the presence of arbuscular mycorrhizal fungi influence growth and nutrient uptake of a wild-type tomato cultivar and a mycorrhiza-defective mutant, cultivated with roots sharing the same soil volume. *New Phytologist*, 166: 601-609.

NEWMAN, E. I., & REDDEL, P. 1987. The distribution of mycorrhizas families of vascular plants. *New Phytologist*, 106: 745-751.

NGANJE, W.E., BANGSUND, D.A., LEISTRITZ, F.L., WILSON, W.W., & TIAPO, N.M. 2002. Estimating the economic impact of a crop disease: the case of *Fusarium* head blight in US wheat and barley. In *National Fusarium Head Blight Forum Proceedings* (Vol. 2002, pp. 275-281).

PANDEY, R., SINGH, B., & NAIR, T.V.R. 2005. Impact of arbuscular– mycorrhizal fungi on phosphorus efficiency of wheat, rye, and triticale. *Journal of Plant Nutrition*, 28(10): 1867–1876. doi:10.1080/ 01904160500251381.

PARADIS, R., DALPE, Y., & CHAREST, C. 1995. The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat. *New Phytologist*, 129: 637-642.

PARRY, D.W., JENKINSON, P., McLEOD, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals a review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.

PHILLIPS, J.M., & HAYMAN, D.S. 1971. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycology Society*, 55, 158-161.

PIRGOZLIEV, S.R., EDWARDS, S.G., HARE, M.C., & JENKINSON, P. 2003. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109(7), 731-742.

POZO, M.J., & AZCON-AGUILAR, C. 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393-398.

POZO, M.J., AZCON-AGUILAR, C.N., DUMAS-GAUDOT, E., & BAREA, J.M. 1999. [beta]- 1,3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Science*, 141: 149-157.

POZO, M.J., CORDIER, C., DUMAS-GAUDOT, E., GIANINAZZI, S., BAREA, J.M., & Azcón- Aguilar, C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on

defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*, 53: 525-534.

RIVERA-BECERRIL, F., CALANTZIS, C., TURNAU, K., CAUSSANEL, J.P., BELIMOV, A. A., GIANINAZZI, S., STRASSER, R.J., & GIANINAZZI-PEARSON, V. 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1177-1185.

ROSENDAHL, S. 1985. Interactions between the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and *Aphanomyces euteiches* root rot of peas. *Journal of Phytopathology*, 114: 31-40.

RUIZ-LOZANO, J.M., AZCON, R., & PALMA, J.M. 1996. Superoxide dismutase activity in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress. *New Phytologist*, 134: 327-333.

RUIZ-LOZANO, J.M., COLLADOS, C., BAREA, J.M., & AZCON, R. 2001. Cloning of cDNAs encoding SODs from lettuce plants which show differential regulation by arbuscular mycorrhizal symbiosis and by drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 52: 2241-2242.

RYAN, M.H., CHILVERS, G.A., & DUMARESQ, D.C. 1994. Colonization of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on a conventional neighbor. *Plant and Soil*, 160:33–40.

SCHÜBLER, A., & WALKER, C. 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. *The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University*, <https://www.createpace.com/3698603>.

SCHÜSSLER, A., SCHWARZOTT, D., & WALKER, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105: 1413-1421.

SCHÜTZENDUBEL, A., & POLLE, A. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal- induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1351-1365.



SEKHARA REDDY, D.M.R., SVISTOONOFF, S., BREUILLIN, F., WEGMÜLLER, S., BUCHER, M., & REINHARDT, D. 2009. Development and function of the arbuscular mycorrhizal symbiosis in petunia. In T. Gerats & J. Strommer (Eds) *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Springer, New York: 131-156.

SELOSSE, M. A., RICHARD, F., HE, X., & SIMARD, S.W. 2006. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses. *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 621-628.

SHAUL O., GALILI S., VOLPIN H., GINZERBERG I., ELAD, Y., CHET I & KAPULNIK Y., 1999. Mycorrhiza-induced changes in disease severity and PR protein expression in tobacco leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 12(11): 1000–1007. doi:10.1094/MPMI.1999.12.11.1000. PMID:10550896.

SHETTY, K.G., HETRICK, B.A.D., CHWAB, A.P. 1995. Effects of mycorrhizae fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution*, 88: 307-314.

SINGH, A.K., HAMEL, C., DEPAUW, R.M., & KNOX, R.E. 2012. Genetic variability in arbuscular mycorrhizal fungi compatibility supports the selection of durum wheat genotypes for enhancing soil ecological services and cropping systems in Canada. *Canadian journal of microbiology*, 58(3), 293-302.

SIEVERDING, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal management in tropical agrosystems. *Technical Cooperation, Federal Republic of Germany*. 371p.

SLEZACK, S., DUMAS-GAUDOT, E., PAYNOT, M., & GIANINAZZI, S. 2000. Is a fully established arbuscular mycorrhizal symbiosis required for bioprotection of *Pisum sativum* roots against *Aphanomyces euteiches*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13: 238-241.

SMITH, F.A., & SMITH, S.E. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 137: 373-388.

SMITH, S.E. & READ, D.J. ed. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition). Academic Press, London, pp 800.

SMITH, S.E., & READ, D.J. ed. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, Calif. USA.

SMITH, S.E., & READ, D.J. ed. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego and London, pp 605.

SMITH, S.E., JAKOBSEN, I., GRONLUND, M., & SMITH, F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156: 1050-1057.

SNEDECOR, G.W., & COCHRAN, G.W. 1971. *Méthodes Statistiques*. 6e ed A.C.T.A., paris.

SNYDER, C.S., BRUULSEMA, T.W., JENSEN, T.L & FIXEN, P.E. 2009. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, and Ecosystem Environment*, 133(34): 247–266. doi:10.1016/j.agee.2009.04021.

SOLAIMAN, M.D., & SAITO, M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytol*, 136, 533–538.

SOLTNER, D. 1988. *Les grandes productions végétales*. Les collections sciences et techniques agricoles, Ed. 16<sup>ème</sup> Edition, 464 p.

SONG, Y.Y., ZENG, R.S., XU, J.F., LI, J., SHEN, X., & YIHDEGO, W.G. 2010. Interplant communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. *PloS One*, 5: e13324.

ST-ARNAUD, M, HAMEL, C., CARON, M., FORTIN, J.A. 1995a. Endomycorhizes VA et sensibilité des plantes aux maladies: synthèse de la littérature et mécanismes d'interaction potentiels. In: Fortin JA, Charest C, Piché Y, eds. *La symbiose mycorhizienne-état des connaissances*. Frelighsburg, Canada: Orbis Publishing, 51-87.

ST-ARNAUD, M., VIMARD, B., FORTIN, J.A., HAMEL, C., & Caron, M. 1997. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f-sp. dianthi in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Botany*, 75: 998-1005.

SUBRAMANIAN, K.S., CHAREST, C., DWYER, L.M., HAMILTON, R.I. 1995. Arbuscular mycorrhiza and water relations in maize under drought stress tesseling. *New Phytologist*, 129: 643-650.

SYLVIA, D.M., & WILLIAMS, S.E. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In. Mycorrhizae sustainable Agriculture. *G.J.Betlhenfalvay, R.G Linderman Eds ASA Special Publication Number 54, Madison Wisconsin* 101-124.

TAMASLOUKHT, M., SEJALON-DELMAS, N., KLUEVER, A., JAUNEAU, A., ROUX, C., BECARD, G., & FRANKEN, P. 2003. Root factors induce mitochondrial-related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to presymbiosis in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Plant Physiology*, 131: 1468-1478.

TAMASLOUKHT, M., WASCHKE, A., & FRANKEN, P. 2007. Root exudate-stimulated RNA accumulation in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Soil Biology & Biochemistry*, 39: 1824-1827.

TROUVELOT, A., GIANINAZZI-PEARSON, V., GIANINAZZI, S. 1982. Les endomycorhizes en agriculture; recherches sur le blé. In: Les mycorhizes : biologie et utilisation (p. 251-256). Presented at Les mycorhizes : biologie et utilisation, Dijon, FRA (1982-05-05 - 1982-05-06). Paris, FRA : INRA Editions.

TROUVELOT, A., KOUGH, J.L., GIANINAZZI-PEARSON, V. 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: "Physiological and genetical aspects of mycorrhizae". Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. Eds. INRA, Paris, 217-221.

WAGG, C., JANSÁ, J., SCHMID, B., & VAN DER HEIJDEN, M.G. 2011. Belowground biodiversity effects of plant symbionts support aboveground productivity. *Ecology letters*, 14(10), 1001-1009.

WANG, B., & QIU, Y.L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299-363.

WASCHKE, A., SIEH, D., TAMASLOUKHT, M., FISCHER, K., MANN, P., & FRANKEN, P. 2006. Identification of heavy metal-induced genes encoding glutathione-S-transferases in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Mycorrhiza*, 17: 1-10.

WEIDMANN, S., SANCHEZ, L., DESCOMBIN, J., CHATAGNIER, O., GIANINAZZI, S., & GIANINAZZI-PEARSON, V. 2004. Fungal elicitation of signal transduction-related plant genes precedes mycorrhiza establishment and requires the *dmi3* gene in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17: 1385-1393.

WHIPPS, J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1198-1227.

WOOD, T., & CUMMING, B. 1992. Biotechnology and the future of VAM commercialization. *Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process*, 1468.

WORLD BANK PUBLICATIONS. 2013. The World Bank Annual Report 2013. *World Bank Publications*.

XAVIER, L.J.C & GERMIDA, J.J., 1998. Response of spring wheat cultivars to *Glomus clarum* NT4 in a P-deficient soil containing arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Soil Science*, 78(3): 481–484. doi:10.4141/S97-106.

YAO, M.K., DESILETS, H., CHARLES, M.T., BOULANGER, R., & TWEDDELL, R.J. 2003. Effect of mycorrhization on the accumulation of rishitin and solavetivone in potato plantlets challenged with *Rhizoctonia solani*. *Mycorrhiza*, 13: 333-336.

YIN, B., WANG, Y., LIU, P., HU, J & ZHEN, W. 2010. Effects of vesicular–arbuscular mycorrhiza on the protective system in strawberry leaves under drought stress. *Frontiers of Agriculture in China*, 4 (2): 165–169. doi:10.1007/s11703-010-0109-8.

YOUNG, J.L., DAVIS, E.A & ROSE, S.L., 1985. Endomycorrhizal fungi in breeder wheats and triticale cultivars field-grown on fertile soils. *Agronomy Journal*, 77(2): 219–224. doi:10.2134/agronj1985.00021962007700020011x.

YÜCEL, C., ÖZKAN H., ORTAŞ, I., & YAĞBASANLAR, T. 2009. Screening of wild emmer wheat accessions (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) for mycorrhizal dependency. *Turkish Journal of Agriculture and Forest*, 33 (5): 513–523.

ZHU, Y.G., SMITH, S.E., BARITT, A.R., & SMITH, F.A., 2001. Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. *Plant and Soil*, 237(2): 249–255. doi:10.1023/A:1013343811110.

# **Annexe**

## **Annexe 1: Liens Internet**

[http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id\\_article=1794](http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id_article=1794)

<http://www.zeblog.com/blog/uploads/s/scorpion2/ble.gif>

<http://hist-geo.ac-rouen.fr/site/spip.php?article5336>

<http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>

<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr>

<http://www.penser-bio.fr/>

[http://www.tu-darmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo\\_taxonomy.html](http://www.tu-darmstadt.de/fb/bio/bot/schuessler/amphylo/amphylo_taxonomy.html)

<http://www.graines-de-noe.org>

<http://www.inoculumplus.eu>

[http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Pietin\\_verse.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Pietin_verse.html)

[http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Rouille\\_brune.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Rouille_brune.html)

[http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les\\_cereales/la\\_protection\\_phyto\\_du\\_ble/les\\_maladies\\_ravageurs\\_et\\_adventices/les\\_maladies/Septoriose\\_Tache\\_foliaire.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/cultures/les_cereales/la_protection_phyto_du_ble/les_maladies_ravageurs_et_adventices/les_maladies/Septoriose_Tache_foliaire.html)

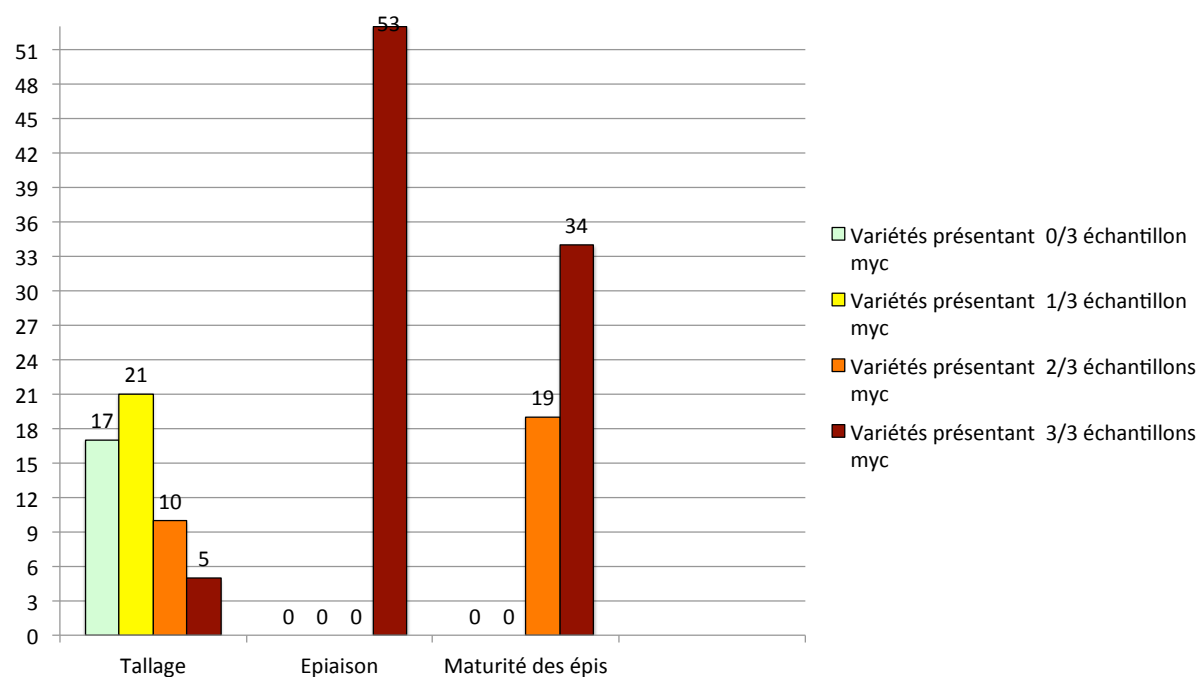
<http://www.penser-bio.fr/>

[http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/bles\\_vilmorin/table\\_espece.php](http://www.museum.agropolis.fr/pages/documents/bles_vilmorin/table_espece.php)

<http://www.semencespaysannes.org/index.php>

<https://www6.clermont.inra.fr/umr1095/Equipes/Infrastructures-experimentales/Centre-de-Ressources-Biologiques/Decrire-et-evaluer-les-collections>

## Annexe 2: Valeurs numériques correspondantes de la figure 22





## Annexe 3: Tables d'Alexander (1965) pour la méthode de détermination du nombre le plus probable de propagules de champignons mycorrhizogènes dans le sol.

### ANNEXE 1 :

=====

#### TABLES D'ALEXANDER (1965) ET METHODE POUR DETERMINER LE NOMBRE LE PLUS PROBABLE DE PROPAGULES DE CHAMPIGNONS MYCORRHIZOGENES DANS UN SOL

##### MOST-PROBABLE-NUMBER METHOD FOR MICROBIAL COUNT

Table 100-1. Table of most probable numbers for use with 10-fold dilutions and 5 tubes per dilution (Cochran, 1950).

P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	Most probable number for indicated values of P <sub>3</sub>					
		0	1	2	3	4	5
0	0	-	0.019	0.036	0.054	0.072	0.090
0	1	0.019	0.036	0.055	0.073	0.091	0.11
0	2	0.037	0.055	0.074	0.092	0.11	0.10
0	3	0.056	0.074	0.093	0.11	0.13	0.15
0	4	0.075	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17
0	5	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19
1	0	0.020	0.040	0.060	0.090	0.10	0.12
1	1	0.040	0.061	0.081	0.10	0.12	0.14
1	2	0.061	0.082	0.10	0.12	0.15	0.17
1	3	0.093	0.10	0.13	0.15	0.17	0.19
1	4	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22
1	5	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24
2	0	0.045	0.068	0.091	0.12	0.14	0.16
2	1	0.068	0.092	0.12	0.14	0.17	0.19
2	2	0.093	0.12	0.14	0.17	0.19	0.22
2	3	0.12	0.14	0.17	0.20	0.22	0.25
2	4	0.15	0.17	0.20	0.23	0.25	0.29
2	5	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32
3	0	0.078	0.11	0.13	0.16	0.20	0.23
3	1	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.27
3	2	0.14	0.17	0.20	0.24	0.27	0.31
3	3	0.17	0.21	0.24	0.28	0.31	0.35
3	4	0.21	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40
3	5	0.25	0.29	0.32	0.37	0.41	0.45
4	0	0.13	0.17	0.21	0.25	0.30	0.36
4	1	0.17	0.21	0.26	0.31	0.36	0.42
4	2	0.22	0.26	0.32	0.38	0.44	0.50
4	3	0.27	0.33	0.39	0.45	0.52	0.59
4	4	0.34	0.40	0.47	0.54	0.62	0.69
4	5	0.41	0.48	0.56	0.64	0.72	0.81
5	0	0.23	0.31	0.43	0.58	0.76	0.95
5	1	0.33	0.46	0.64	0.84	1.1	1.3
5	2	0.49	0.70	0.95	1.2	1.5	1.8
5	3	0.79	1.1	1.4	1.8	2.1	2.5
5	4	1.3	1.7	2.2	2.8	3.5	4.3
5	5	2.4	3.5	5.4	9.2	16	-

##### 100-3.3 Calculations

To calculate the most probable number of organisms in the original sample, select as  $p_1$  the number of positive tubes in the least concentrated dilution in which all tubes are positive or in which the greatest number of tubes is positive, and let  $p_2$  and  $p_3$  represent the numbers of positive tubes in the next two higher dilutions. Then find the row of numbers in Table 100-1 in which  $p_1$  and  $p_2$  correspond to the values observed experimentally. Follow that row of numbers across the table to the column headed by

## Annexe 4 : Tables de Cochran (1950) pour le calcul du facteur de confiance du nombre le plus probable de propagules de champignons mycorrhizogènes.

### ANNEXE 1 (SUITE)

Table 100-2. Factors for calculating the confidence limits for the most-probable number count (Cochran, 1950).

N° of tubes per dilution (n)	Factor for 95 % confidence limits with indicated dilution ratios			
	2	4	5	10
1	4.00	7.14	5.32	14.45
2	2.57	4.20	4.47	5.81
3	2.23	2.10	3.39	4.88
4	2.00	2.89	2.38	3.80
5	1.85	2.41	2.59	3.30
6	1.76	2.23	2.39	2.93
7	1.59	2.10	2.23	2.74
8	1.54	2.00	2.12	2.57
9	1.53	1.92	2.02	2.43
10	1.53	1.96	1.95	2.32

the observed value of  $p_3$ . The figure at the point of intersection is the most probable number of organisms in the quantity of the original sample represented in the inoculum added in the second dilution. Multiply this figure by the appropriate dilution factor to obtain the MPN for the original sample.

As an example, consider the instance in which a 10-fold dilution with 5 tubes at each dilution yielded the following numbers of positive tubes after incubation : 5 at  $10^{-3}$ , 5 at  $10^{-4}$ , 3 at  $10^{-7}$ , 1 at  $10^{-8}$ , and 0 at  $10^{-9}$ . In this series,  $p_1 = 5$ ,  $p_2 = 3$ , and  $p_3 = 1$ . For this combination of  $p_1$ ,  $p_2$ , and  $p_3$ , Table 100-1 gives 1.1 as the most probable number of organisms in quantity of inoculum applied in the  $10^{-7}$  dilution. Multiplying this number by the dilution factor  $10^7$  gives 11 million as the MPN for the original sample.

As a second example, consider the same situation as above except that the most concentrated dilution is  $10^{-7}$ . Under these circumstance,  $p_1 = 3$ ,  $p_2 = 1$ , and  $p_3 = 0$ . For this combination of  $p_1$ ,  $p_2$ , and  $p_3$ , Table 100-1 gives 0.11 as the most probable number of organisms in the quantity of inoculum applied in the  $10^{-8}$  dilution. Multiplying 0.11 by  $10^8$  yields 11 million organisms as the MPN value for the original sample, as before.

The 95 % confidence limits for MPN values can be calculated from prepared tables. A compilation of factors, keyed to rate of dilution and to number of tubes per dilution, is shown in Table 100-2. To find the upper confidence limit at the 95 % level, multiply the MPN value by the appropriate factor from the table. To find the lower limit, divide the MPN value by the factor. In the examples given in the foregoing paragraphs, the factor is 3.30, and the confidence limits are

$$(1.1)(3.30) = 3.6$$

and

$$(1.1)/3.30 = 0.33$$

## **Annexe 5 : Article Scientifique**

Ci dessous l'article scientifique intitulé « Impact des mycorhizes sur le rendement et la qualité des graines de variétés anciennes de blés utilisées en agriculture biologique », en soumissions pour publication dans la revue Cryptogamie, Mycologie.

# **Impact des mycorhizes sur le rendement et la qualité des graines de variétés anciennes de blés utilisées en agriculture biologique**

## **Mycorrhizal impact on yield and grain quality of old wheat varieties used in organic agriculture.**

*Olivier ESSIANE ONDO <sup>1,\*</sup>, Silvio GIANINAZZI <sup>1,2</sup> & Daniel WIPF <sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Université de Bourgogne, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France  
Courriels : [essianeondo@hotmail.fr](mailto:essianeondo@hotmail.fr); [daniel.wipf@dijon.inra.fr](mailto:daniel.wipf@dijon.inra.fr)

<sup>2</sup> CNRS, ERL 6300 Interactions Plantes Microorganismes, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France, Adresse actuelle : INOCULUMplus, Technopôle Agro-Environnement, AgrOnov, RD31, 21110 Bretenière, France. Courriel : [silvio.gianinazzi@inoculumplus.eu](mailto:silvio.gianinazzi@inoculumplus.eu)

Mots-clés : mycorhizes à arbuscules, variétés anciennes, biomasse, inoculum, qualité du grain

Keywords : arbuscular mycorrhiza, old cultivar, biomass, inoculum, grain quality

\* auteur à qui la correspondance doit être adressée

**Résumé** – Le criblage au champ de 53 variétés de blés anciens a montré des différences dans leur aptitude à développer des mycorhizes avec des champignons indigènes. Des plantes analysées, seul cinq variétés étaient toutes mycorhizées au Tallage, alors que toutes l'étaient au stade Epiaison. Au stade Maturation des épis, dix-neuf variétés montraient une diminution de la mycorhization. L'apport d'un inoculum commercial lors d'expérimentation en serre dans des pot contenant le même sol, a modifié ces proportions. Cet inoculum a également permis l'amélioration du développement des blés et la qualité des graines de certaines variétés démontrant à la fois l'importance du génome de la plante dans l'expression bénéfique de la symbiose et de l'impossibilité des champignons mycorhizogènes indigènes à assurer le développement optimale de la symbiose. Au champ l'effet variétal a été confirmé suite à l'apport d'un inoculum commercial ou, à l'exception d'une variété, l'inoculation a permis une amélioration du rendement, particulièrement sensible chez la variété qui a été la plus productive, soulignant l'intérêt qu'il y aurait à développer un projet de croisement pour augmenter la réponse des blés aux mycorhizes.

**Abstract** – 53 old wheat varieties screened in field showed differences in their ability to form mycorrhiza with indigenous fungi. Plants of only five varieties were all mycorrhized at Tillering, whilst all varieties were mycorrhized at the stage of Heading and, for nineteen of them, a decrease in the number of mycorrhizal samples were observed at Maturity. Use of a commercial inoculum and the same field soil in a greenhouse modified this classification. Inoculation improved plant growth and grains quality of a number of varieties underlying once more the importance of plant genome and that indigenous fungi was unable to ensure the optimal symbiotic development. In field this varietal effect was confirmed with a commercial inoculum, were, with the exception of one variety, inoculation improved plant yield and grain quality, particularly for the most productive variety, indicating that plants can be bred for increased responsiveness to mycorrhiza.

## INTRODUCTION

Depuis la deuxième guerre mondiale, l'agriculture a cherché à répondre à une demande de plus en plus forte de produits agricoles, par une utilisation croissante de techniques modernes basées sur le progrès en matière de machinisme (Formation des Chefs d'Exploitation Agricole (FOCEA) <http://focea.fr/notre-vision/agriculture/machinisme-agricole/>), l'amélioration génétique des plantes cultivées (Bonneuil *et al.*, 2012), et l'utilisation d'intrants chimiques de synthèse (engrais et produits phytosanitaires) (Aubertot *et al.*, 2005). Ces changements ont conduit à augmenter considérablement la production végétale. Cependant ces méthodes, et notamment celle de l'utilisation intensive des intrants chimiques de synthèse, s'avèrent aujourd'hui avoir des conséquences néfastes vis-à-vis de l'environnement, marquées en particulier par la dégradation des sols, de l'air et la qualité de l'eau (Snyder *et al.*, 2009), mais aussi de la santé du consommateur. Aujourd'hui, environ 40% des sols agricoles est sérieusement dégradé essentiellement à cause de l'activité humaine et, si rien n'est fait, on peut prévoir une poursuite de cette dégradation (FAO, 2010 ; World Bank Publications, 2013). A cela s'ajoute le constat d'une baisse des ressources non renouvelables essentielles à la productivité végétale, tel le phosphore (P), alors que la population mondiale ne cesse d'augmenter (World Bank Publications, 2013).

C'est à l'issue de ce constat que des mesures ont été mises en place aussi bien en France qu'au niveau européen: le plan Ecophyto 2018 proposé par le Grenelle de l'Environnement vise à réduire de moitié l'utilisation des produits phytosanitaire avant 2018, et la Politique Agricole Commune de l'UE (PAC 2014-2020) s'engage à subventionner les agriculteurs utilisant des pratiques respectueuses de l'environnement. Le but est non seulement d'augmenter les rendements et de satisfaire la demande sociétale en produits agricoles, mais aussi d'améliorer la qualité de ces produits, tout en respectant au mieux l'environnement. De même que ces institutions, l'Association Internationale pour une Agriculture Ecologique Intensive (AEI) (<http://www.aei-asso.org/fr>) est engagée dans des programmes de recherche visant à apporter les connaissances nécessaire à la mise en place de ce que l'INRA définit comme une agriculture écologiquement intensive et à haute valeur environnementale (Griffon, 2013). Une des voies pour atteindre ces objectifs passe par une sélection de génotypes végétaux qui peuvent faire bon usage des ressources biologiques du sol comme les champignons mycorrhizogènes à arbuscules (CMA), et autres microorganismes d'intérêt impliqués dans la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates ou la lutte

biologique. Les CMA qui se caractérisent par leur capacité à établir des relations symbiotiques avec les racines de la majorité des plantes cultivées, comme le blé objet de cette étude (Azcón et Ocampo, 1981; Young *et al.*, 1985; Hetrick *et al.*, 1992, 1995; Xavier et Germida, 1998; Zhu *et al.*, 2001; Yücel *et al.*, 2009), constituent de ce fait un outil biologique particulièrement intéressants.

La plante mycorhizée est connue pour utiliser plus efficacement les nutriments du sol (Javaid, 2009) comme : N, P (Liu *et al.*, 2000a), mais aussi K, Ca, Mg (Liu *et al.*, 2002), Fe, Cu, Zn et Mn (Liu *et al.*, 2000b). Chez les légumineuses, la mycorhization améliore la fixation biologique de l'azote (Barea et Azcón-Aguilar, 1983; Haselwandter et Bowen, 1996). Ainsi grâce aux hyphes extra-radicaux développés par les mycorhizes, les plantes puisent plus efficacement les nutriments et l'eau du sol (Atul-Nayyar *et al.*, 2009). La symbiose mycorhizienne permet aux plantes de mieux s'adapter à leur environnement leur conférant ainsi une protection accrue vis à vis des stress environnementaux (Sylvia et Williams, 1992), comme la sécheresse (Subramanian *et al.*, 1995; Aroca *et al.*, 2008; Yin *et al.*, 2010), le froid (Paradis *et al.*, 1995), la salinité élevée (Davis et Young, 1985) et la pollution (Shetty *et al.*, 1995). De plus, la symbiose mycorhizienne tend à minimiser l'incidence des maladies et atténue l'effet nocif de certains agents pathogènes (St Arnaud *et al.*, 1995 ; Shaul *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2007). Par les nombreux services écologiques que les mycorhizes rendent aux plantes, leur rôle est essentiel à la vie des plantes en conditions naturelles (Lovato *et al.*, 1996 ; Gianinazzi *et al.*, 2010), et améliorent aussi des propriétés physiques du sol (Hallett *et al.*, 2009). La symbiose mycorhizienne joue aussi un rôle dans la qualité des produits agricoles ; en effet grâce à cette interaction la plante améliore sa teneur en molécules d'intérêt pour la santé humaine (Khaosaad *et al.*, 2006 ; Farmer *et al.*, 2007). A cela s'ajoute que les CMA sont connus pour réduire l'absorption par les plantes des métaux lourds, comme le Cd présent dans les sols de culture (Janoušková et Pavlíková, 2010), une fonction intéressante dans le contexte d'une production plus écologique. Ainsi par les nombreux services écologiques que les mycorhizes rendent aux plantes, elles constituent un outil fort intéressant pour améliorer la production végétale par des moyens biologiques (Lovato *et al.*, 1996; Gianinazzi *et al.*, 2010 ; Wagg *et al.*, 2011).

L'utilisation courante dans les pratiques agricoles de fortes fumures phosphatées, et l'abus de certains fongicides systémiques (Gianinazzi *et al.*, 2010 ; Ryan *et al.*, 1994), aboutissent à



inhiber la formation de la symbiose mycorhizienne, alors que les CMA sont présents dans les champs, y inclus ceux cultivés en blé (Greny, 1973).

L'efficacité de la symbiose mycorhizienne formée entre les CMA et les racines des plantes est fortement dépendante du génotype de la plante hôte. Les interactions des génotypes plantes-CMA ont été étudiées chez un certain nombre de céréales, notamment le maïs (*Zea mays* L.) (Kaeppler *et al.*, 2000; An *et al.*, 2010), le blé hexaploïde (*Triticum aestivum* L.) (Azcón et Ocampo 1981; Young *et al.*, 1985; Zhu *et al.*, 2001), le blé amidonnier (*T. turgidum subsp diccocus* Schuebl) (Yücel *et al.*, 2009), et les *Triticum* avec différents niveaux de ploïdie (Hetrick *et al.*, 1992). Différents niveaux de compatibilités entre CMA et génotypes de blé ont été mises en évidence chez des cultivars de blé modernes aussi bien de printemps que d'hiver (Hetrick *et al.*, 1992 ; Bertheau *et al.*, 1980 ; Xavier et Germida, 1998). Cependant, peu d'informations sont disponible au niveau de la variabilité génétique de la compatibilité du blé dur tétraploïde (*Triticum turgidum* var. Durum Desf.) et les CMA (Singh *et al.*, 2012), alors que l'utilisation de génotypes de blé capables de former une symbiose mycorhizienne performante peut constituer un puissant moyen pour exploiter de façon optimale les ressources en nutriment et en eau du sol. La compatibilité de la plante hôte est très importante pour les CMA, étant donné que ces champignons sont des biotrophes obligatoires et incapables de compléter leur cycle de vie en l'absence d'une plante hôte (Smith et Read, 1997).

Dans le cas du blé, l'utilisation raisonnée des CMA est particulièrement intéressante, car il s'agit d'une plante jouant un rôle essentiel dans notre économie. Bien que l'exploitation des CMA au champ soit une approche difficile dans un contexte d'une agriculture intensive, il semble que des variétés de blés, même les plus récentes, ont gardé leur caractère mycorhizotrophe au cours du processus de sélection (Hetrick *et al.*, 1992 ; Essiane Ondo, 2010). Le peu d'études comparatifs réalisées à ce jour montrent que les CMA n'ont pas toujours un effet stimulant sur le développement du blé et que chez certains variétés ils peuvent même avoir un effet dépressif sur le développement de la plante (Bertheau *et al.*, 1980 ; Azcón et Ocampo, 1981). Il est donc très important, dans le contexte actuel de développement d'une approche agroécologique pour réduire les intrants chimiques de synthèse en production végétale, de bien connaître l'impact des CMA sur les variétés de blés utilisées en production agricole.



Dans cette optique, les travaux de Hetrick *et al.*(1992) sur la dépendance mycorhizienne des variétés modernes et anciennes de blé, ainsi que de leurs ancêtres, ont clairement montré que surtout les variétés anciennes et les ancêtres bénéficient de la formation de la symbiose mycorhizienne. A noter que les différences de réponse aux mycorhizes chez les ancêtres du blé, les lignées et les variétés sont fortement corrélées avec la fibrosité des racines (Hetrick *et al.*, 1992). Aussi selon Mason et Spaner (2006), les variétés de blé (*Triticum aestivum* L.) sélectionnées avant l'avènement des intrants chimiques de synthèse et des pesticides chimiques bénéficient au mieux de la mycorhization.

Les travaux de Hetrick *et al.*(1992) et d'Essiane Ondo (2010), ont mis en évidence l'existence d'une grande variabilité dans la réponse des blés, anciens et modernes, à la mycorhization lorsque l'inoculum est composé d'une seule souche de CMA. Hetrick *et al.* (1992) ont aussi mis montré que l'utilisation d'un inoculum de laboratoire contenant six espèces de CMA permettait d'optimiser l'effet bénéfique des mycorhizes chez différentes variétés de blés anciennes et modernes.

L'ensemble de ces travaux démontrant une forte variabilité génétique de l'aptitude à mycorhizer des différentes variétés et cultivars du blé ont été menées surtout en condition d'agriculture conventionnelle et chez les variétés asiatiques, nord-américaines, britanniques *et allemandes* Hetrick *et al.* (1992). Dans notre étude nous avons donc cherché à définir l'impact des mycorhizes sur des variétés anciennes de blé utilisées en France en agriculture biologique. Les objectifs ont été (1) de définir l'aptitude d'un nombre important de variétés de blé anciens à se mycorhizer au champ, (2) d'évaluer l'influence d'un apport d'inoculum mycorhizogène commercial à base de 6 souches de CMA sur le développement de la mycorhization, le rendement et la qualité des graines de blé cultivée en serre et au champ.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel biologique

#### Blé

Les 53 variétés de blé utilisées pour ce travail ont été obtenues auprès de l'association Graines de Noé (<http://www.graines-de-noe.org>) qui nous a fourni à titre gracieux les graines nécessaires à la réalisation de l'ensemble des expériences. La liste des variétés est donnée à la Fig.1

#### Champignons mycorhizogènes

L'inoculum commercial SYMBIVIT®, fourni par l'entreprise INOCULUM PLUS (France) et contenant 6 champignons mycorhizogènes décrit par le producteur comme étant : *Rhizophagus irregularis* BEG140, *Claroideoglomus claroideum* BEG96, *Funneliformis mosseae* BEG95, *F. geosporum* BEG199, *C. etunicatum* BEG92 et *Glomus microaggregatum* BEG56, a été utilisé pour l'ensemble des expérimentations. Le nombre de propagules fongiques contenus de ce produit est de 150.000/kg. ([www.inoculumplus.eu](http://www.inoculumplus.eu))

#### Criblage des variétés de blé pour leur aptitude mycorhizienne au champ

Cent vingt parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> ont été mises en place au Technopole AgrOnov (F-21110 Bretenières) sur un champ cultivé, transformé en prairie depuis 8 ans, pour accueillir 120 variétés de la collection de Graines de Noé. Parmi celles-ci, 53 variétés sélectionnées pour leurs intérêts en agriculture biologique par les membres de l'association de Graines de Noé, ont été analysées pour leur aptitude à former des mycorhizes à trois stades phénologiques différents de leur développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis) avec la population de CMA présentent dans le sol. Trois échantillons de chaque variété ont été prélevés de manière aléatoire dans les parcelles à chaque stade phénologique de développement, les racines de

chaque échantillon ont été digérées colorées selon la méthode de Phillips et Hayman (1971) et observé à la loupe binoculaire.

### **Expérimentation en serre.**

Les graines des quatre variétés de blé retenues après criblage au champ, à savoir 'Blanc de Lorraine, Blé de Saône, Blé autrichien et Rouge de roc, ont été stérilisées à la surface dans une solution d'hypochlorite de calcium à 7 % pendant 5 minutes, rincées à l'eau osmosée et mises à vernaliser pendant 4 semaines à 4° C dans des boîtes de Pétri stériles avec une photopériode de 12h. Au stade 3 feuilles, chaque plantule a été repiquée dans un pot en terre cuite de 1,2 litres contenant de la terre provenant du même champ ayant servi au criblage des 53 variétés de blé. Pour chaque variété, deux traitements (inoculés ou non avec du SYMBIVIT<sup>®</sup>) et 9 répétitions par traitement ont été réalisés. La terre a été prélevée sur une profondeur d'environ 20 cm en octobre 2011 dans la parcelle ayant servi au criblage. Avant utilisation, elle a été séchée, tamisée à 5mm et mélangée avec 25% de gravier stérile. Les caractéristiques de la terre utilisée sont les suivantes: sable 9%, limon 60%, argile 31%, P disponible (Olsen) 56µg/g, NO<sub>3</sub>- 7,7 µg/g, pH (H<sub>2</sub>O) 7,1. L'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> a été apporté dans le trou de plantation à raison de 30 g par pot (3750 propagules/L) au moment du repiquage des plantules de blé. Les plantes se sont développées en serre jusqu'à la maturité des graines (35 semaines)

### **Expérimentation au champ**

Une parcelle de 180 m<sup>2</sup> d'un champ expérimental du Technopôle AgrOnov (F-2110 Bretenières) a été préparée comme suit : une année avant l'expérimentation avec les variétés de blé, une culture de moutarde a été mise en place coupée avant sa mise à graine et ensevelie dans le sol comme engrais vert. Au printemps suivant, la parcelle a été soumise à une solarisation pendant 45 jours ; le réchauffement de la couche superficielle (jusqu'à 20 - 30 cm) a été obtenu en recouvrant le sol d'un film plastique transparent après un arrosage abondant pour assurer une meilleure conduction de la chaleur en profondeur. Cette technique permet de détruire certains organismes indésirables, notamment les microorganismes

pathogènes du sol et les graines de plantes adventices ; elle a aussi comme conséquence de diminuer le pouvoir mycorhizogène du sol (Caussanel, 1996).

Sur la parcelle de 180 m<sup>2</sup>, 32 mini parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> ont été réalisées pour évaluer l'effet de la mycorhization au champ sur les quatre variétés de blé expérimentées en serre. Chaque variété a été semée sur huit parcelles différentes, choisies de manière aléatoire afin d'avoir 4 répétitions par traitement (4 parcelles inoculées et 4 parcelles non inoculées par variété). Sur conseil de l'association Graines de Noé, les variétés ont été semées à la main à raison de 200 g de graines par mini parcelle répartie sur 4 lignes (50 g par ligne). Les parcelles inoculées ont reçu 1,20 kg de SYMBIVIT<sup>®</sup> par parcelle, reparti sur 4 lignes (300 g/ligne). Les graines ont été semées le 14 Novembre 2012, la moisson a eu lieu le 01 Août 2013.

### **Evaluation du taux de mycorhization**

A chaque stades phénologiques de développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis), trois plantes par traitement ont été sélectionnées de manière aléatoire. Un échantillon représentatif du système racinaire de chaque plante à analyser est prélevé, lavé et coloré au bleu de trypan selon la méthode de Phillips et Hayman (1971). Sur les échantillons prélevés au champ la notation a porté uniquement sur la présence ou l'absence de la mycorhization, alors que sur ceux provenant de l'expérimentation en serre les observations ont portées sur la fréquence (F%), l'intensité (M%) et le taux d'arbuscules (A%) des racines selon la méthode Trouvelot *et al* (1986).

### **Evaluation des différents paramètres de développement des blés en serre**

Le poids de matière fraîche des parties aériennes et racinaires ont été déterminé à trois stades phénologiques de développement du blé, à savoir Tallage, Epiaison et Maturité des épis. Le nombre et le poids des graines ont été évalués après récolte. Pour le test de viabilité, les graines sont trempées dans l'eau pendant une nuit puis coupés longitudinalement en deux ; l'embryon ainsi visualisé de profil est mis en contact avec 2 ml d'une solution de chlorure de triphenyl tétrazolium (TTC) à 0,25% préparé dans du tampon phosphate (50mM pH 7,4)

(Grabe, 1970). La réaction est arrêtée en remplaçant la solution de TTC par de l'eau. Si l'embryon présente une activité métabolique il y a réduction du TTC, et formation du composé rouge TTC-formazan. Le degré de coloration est déterminé à l'aide d'une loupe binoculaire selon la grille de Grabe (1970) ; la coloration rouge indique la présence dans l'embryon d'une activité métabolique et son intensité le niveau de potentialité du grain à germer (plus la coloration est intense plus son potentiel est élevé).

### **Evaluation des différents paramètres de développement des blés au champ**

Les paramètres suivant ont été analysés en fin de culture : biomasse fraîche des parties aériennes et racinaires, taux de mycorhization, nombre de graines produites et taux de leur viabilité évalué avec le test TTC comme décrit précédemment. A la récolte, le nombre et le poids des graines ont été évalués pour chaque parcelle. Le poids moyen de remplissage des graines a été évalué en faisant le rapport du poids total des graines produites par plante sur le nombre total de graines de cette même plante. Après récolte, 100 graines provenant de chaque parcelle, et choisies de manière aléatoire, ont été mis à germer dans une chambre froide à 4°C et le pourcentage de germination évalué. La viabilité des graines a été analysée avec le test TTC sur un échantillon de 100 graines pris au hasard. L'analyse du taux de phosphore des graines a été effectuée par le laboratoire SADEF Agronomie et Environnement (Pôle d'Aspach, Rue de la Station F-68700 Aspach-le-Bas) en utilisant la méthode de dosage par plasma à couplage inductif relié à la spectrométrie d'émission atomique (Inductively Coupled Plasma - atomic emission spectrometry ou ICP-AES) (Méthode internes MA7-16V rev3 / IF04-18 rev1).

### **Analyses statistiques**

Toutes les données ont été analysées par le test non paramétrique de comparaison de plusieurs échantillons de Kruskal-Wallis.

## RESULTATS

### **Mycorhization des variétés de blé au champ.**

L'analyse des 53 variétés de blé anciens a montré qu'elles pouvaient toutes se mycorhizer au champ avec la population de CMA indigènes (Fig.1), mais le niveau de mycorhization variait selon la variété et le stade du développement de la plante (Tallage, Epiaison ou Maturité des épis). L'ensemble des trois plantes analysées étaient mycorhizées au Tallage pour seulement cinq variétés (21, 37, Amidonnier blanc, Engrain et Poulard de Beauce). Par contre toutes les plantes de chaque variété l'étaient au stade Epiaison, alors qu'au stade Maturité des épis l'ensemble des plantes analysées était mycorhizés pour seulement 34 variétés.

Un des objectifs de l'étude était de voir si l'on pouvait améliorer l'aptitude des variétés de blé à se mycorhizer avec un apport d'inoculum. Nous avons donc retenu 4 des 53 variétés criblées pour une étude approfondie en serre et au champ, à savoir une variété ne se mycorhizant pas au stade Tallage (Blé de la Saône) et 3 variétés se mycorhizant très peu à ce même stade (Blanc de Lorraine, Blé autrichien, Rouge du Roc).

### **Influence d'un inoculum exogène sur l'évolution de la mycorhization des blés en serre**

En conditions contrôlées sous serre, les 4 variétés retenues après le criblage au champ, se mycorhizent toutes dès le stade Tallage avec la population de CMA naturellement présente dans le sol prélevé au champ (Fig.2). Selon la variété, la fréquence de mycorhization (F%) varie entre 10% et 58,9% au Tallage, entre 70% et 90% à l'Epiaison et entre 71,1% et 87,7% à Maturité des épis. L'intensité de mycorhization (M%) au Tallage, à l'Epiaison et à Maturité des épis se situe respectivement entre 2,6% et 20,3%, 16,7% et 40,86%, et entre 13,5% et 35,18%. Le taux d'arbuscules (A%) quant à lui varie entre 2,23% et 18,08% au Tallage, entre 9,64% et 35,85% à l'Epiaison, et entre 4,87% et 21,37% à Maturité des épis. Toutes les variétés testées, à l'exception de la variété Blé autrichien, atteignent leur pic de mycorhization à l'Epiaison en présence des CMA indigènes.

L'apport d'un inoculum exogène (SYMBIVIT<sup>®</sup>) modifie le comportement des quatre variétés différemment par rapport aux plantes non inoculées (Fig.2). La variété Blanc de Lorraine voit ses valeurs de mycorhization sensiblement augmentées dès le Tallage : la fréquence (F%) +451,3%, l'intensité (M%) de +438,5% et le taux d'arbuscules (A%) de +463,6%. A l'Epiaison, les augmentations observées sont de : M% +54,9% et A% +35,5%. Tous les paramètres de mycorhization sont sensiblement supérieurs au stade Maturité des épis (+20,8% pour la fréquence (F%), +107,4% pour l'intensité (M%) et +168,7% pour le taux d'arbuscules (A%)). Chez la variété Blé de Saône, l'apport d'inoculum ralenti le développement de la mycorhization aux stades phénologiques Tallage et Epiaison, et cela aussi bien pour M% que A%, mais l'améliore nettement au stade Maturité des épis : +29,7% pour la fréquence (F%), +98,2% pour l'intensité (M%) et +240,8% pour le taux d'arbuscules (A%). Pour l'apport d'inoculum chez la variété Blé autrichien, la mycorhization est sensiblement plus importante au stade Epiaison : F% +38%, M% +184,4% et A% +183,3%. Enfin, le taux de mycorhization chez la variété Rouge de Roc est augmenté sensiblement au stade Maturité des épis : F% +19,8%, M% +63,6% et A% +133,37%.

D'une manière générale, à l'exception de la variété Blé autrichien et contrairement à ce qui se passe avec les blés non inoculés, les variétés de blé inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> atteignent toutes leur pic de mycorhization à Maturité des épis.

## **Influence d'un inoculum exogène sur le développement des blés en serre.**

### **Biomasse**

Au stade Tallage, la biomasse aérienne obtenue en présence de la population indigène de CMA varie entre 1,47 et 3,6g (Fig.3). Les valeurs obtenues avec le traitement SYMBIVIT<sup>®</sup> sont toutes sensiblement supérieures (entre 4,7 et 6,1 g). La biomasse racinaire oscille entre 6,3 et 9,8g avec la population indigène de CMA ; L'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> permet d'amener ces variations aux valeurs supérieures entre 9,5 et 20,64 g.

Au stade Epiaison, la biomasse aérienne varie entre 10 et 23,3g en présence de la population indigène de CMA. Après inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> elle augmente aux valeurs entre 26 et 43g. La biomasse racinaire qui était comprise entre 7,7 et 20g se retrouve entre 3,8 et 26,8g

après inoculation ; dans le cas des variétés Blanc de Lorraine et Blé de Saône ces valeurs sont sensiblement supérieures (Fig.3).

Au stade Maturité des épis, avec la population indigène de CMA la biomasse aérienne varie entre 9,9 et 16,2g alors que les valeurs obtenues avec le traitement SYMBIVIT<sup>®</sup> sont toutes sensiblement supérieures : elles se retrouvent entre 15,7 et 18,2 g après inoculation. La biomasse racinaire oscille entre 3,3 et 38,8g avec la population indigène de champignon, et l'inoculation permet d'amener ces valeurs respectivement à 4,6 et 30,2g. A l'exception du Blanc de Lorraine, les valeurs obtenues avec le traitement SYMBIVIT<sup>®</sup> sont toutes sensiblement supérieures (Fig.3).

Il se dégage de ces résultats que, dans l'ensemble, l'apport d'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> au sol prélevé au champ permet d'améliorer sensiblement la biomasse aérienne des blé anciens au stade Maturité des épis, à l'exception de celle du Blé autrichien. Des résultats analogues sont obtenus pour la biomasse racinaire : Les valeurs sont toutes sensiblement supérieures, à l'exception de celles obtenues avec le Blé autrichien et le Rouge du Roc au stade Epiaison et avec le Blanc de Lorraine au stade Maturité des épis.

### **Production de graines**

Les effets de l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> sur la production de graines par plante varient très fortement d'une variété à l'autre selon qu'on analyse le nombre de graines produit, leur poids ou leur remplissage (Fig.4). L'inoculation induit chez la variété Blé de la Saône une augmentation sensible du nombre et du poids de graines ainsi que leur taux de remplissage. Par rapport aux plates non inoculées, il y a une augmentation du nombre de graines par plantes, de leur poids par plante ainsi que du poids par graines de respectivement 28%, 40% et 25%. Par contre, le Blé autrichien voit sa production de graines diminuée suite à l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> pour l'ensemble des paramètres. Seul le niveau de remplissage des graines est sensiblement supérieur chez les blés inoculés dans le cas des variétés Blanc de Lorraine et Rouge du Roc.

Ces résultats montrent qu'à l'exception du Blé autrichien, l'apport d'un inoculum exogène favorise, en serre, le remplissage des graines.



## **Influence d'un inoculum exogène sur le développement des blés au champ.**

### **Rendement en graines**

Le rendement en graines varie selon les quatre variétés de blé ancien ; à l'exception de la variété Rouge du Roc, il est sensiblement augmenté par l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> dans tous les cas. Le rendement des plantes inoculées par rapport au non-inoculée est augmenté de 6.3% pour la variété Blanc de Lorraine, de 250% pour la variété Blé de la Saône et de 18% pour la variété Blé autrichien (Fig.5). Les rendements faibles observés par rapport à ceux habituellement obtenus en France chez la variété Blé de la Saône, pourraient s'expliquer par le développement de la carie du blé, constatée à la récolte.

### **Qualité des graines**

L'impact de l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> sur la qualité des graines, selon le test TTC, varie peu d'une variété à l'autre (Fig.6). Pour la variété Blanc de Lorraine, l'inoculation permet une augmentation de 17% de graines d'excellente qualité à la récolte. L'inoculation diminue aussi de 80% le nombre des graines de mauvaise qualité. Par contre elle n'a pas d'effet sensible sur les graines de qualité moyenne, dont le pourcentage reste semblable (33% et 36% respectivement pour les plantes non inoculées et les plantes inoculées) (Fig.6). Des résultats analogues sont obtenus avec les trois autres variétés. Pour la variété Blé de la Saône les graines d'excellente qualité augmentent de 30%, le nombre de graines de mauvaise qualité diminuent de 50%, alors que le pourcentage des graines de qualité moyenne n'est que peu modifié (Fig.6). Avec la variété Blé autrichien l'inoculation augmente la part de la récolte des graines d'excellentes qualités de 57% et diminue celle de mauvaise qualité de 70%; les graines de qualité moyenne baissent de 20% (Fig.6). De même pour la variété Rouge du Roc, la part de graines d'excellente qualité augmente de 40%, et celle de mauvaise qualité baisse de 66%, suite à l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> (Fig.6). La part de graines de qualité moyenne n'est que peu affectée par l'inoculation (-15%).

Dans l'ensemble, ces résultats montrent que l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> et la mycorhization qui en résulte augmente chez les quatre variétés de blé anciens étudiées la

production en graines de meilleure qualité tout en diminuant la production en graines de mauvaise qualité.

### **Pouvoir de germination**

Le pourcentage de germination des graines varie en fonction des quatre variétés de blé étudiées, mais il est toujours sensiblement supérieur chez les graines issues de plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> (Fig.7). Chez la variété Blanc de Lorraine, le pourcentage de germination des graines est augmenté de 34% suite à l'inoculation. Ces pourcentages sont respectivement de 17% pour la variété Blé de la Saône, de 10% pour la variété Blé autrichien et pour la variété Rouge du Roc.

Ces résultats confortent ceux sur la viabilité des graines et soulignent l'intérêt d'une mycorhization pour une production de qualité des blés anciens.

### **Taux de phosphore des graines**

Le taux de phosphore des graines varie aussi en fonction des variétés de blé étudiées (Fig.8). Chez la variété Blanc de Lorraine le taux de phosphore des graines issues de plantes non inoculées est de 0,412%, et augmente de 5.6% chez celles de plantes inoculées. Pour la variété Blé de la Saône, les teneurs sont comparables (respectivement de 0,472% et 0,477%), et pour la variété Blé autrichien, il diminue de 2.6% (0,452% à 0,440%) après inoculation. Enfin pour la variété Rouge du Roc, le taux de phosphore des graines issus de plantes non inoculées et inoculé est respectivement de 0,582% et de 0,585% (Fig.8). L'effet particulièrement marqué de la mycorhization sur le contenu en phosphore des graines des variétés Blanc de Lorraine et Blé autrichien souligne l'importance de la plante-hôte dans l'expression bénéfique de la symbiose.

## DISCUSSION

Le criblage de 53 variétés anciennes de blé utilisées en agriculture biologique a révélé l'existence d'une variabilité dans leur aptitude à former des mycorhizes avec les CMA naturellement présents dans un champ transformé en prairie depuis 8 ans. Un tel effet variétal du blé dans le développement de la symbiose mycorhizienne a été observé précédemment chez des nombreuses variétés modernes sélectionnées pour une agriculture intensive (Bertheau *et al.*, 1980 ; Azcon et Ocampo, 1981 ; Young *et al.*, 1985 ; Hetrick *et al.*, 1992 ; Xavier et Germida, 1998 ; Zhu *et al.*, 2001 ; Singh *et al.*, 2012), mais très peu de données existent pour les variétés anciennes (Zhu *et al.*, 2001 ; Friedel *et al.*, 2008). La présente étude étendue des variétés anciennes du blé montre clairement que cet effet variétal varie en fonction du stade du développement végétal. Il était particulièrement importante en début de végétation au stade tallage où pour seulement 5 variétés l'ensemble des plantes analysées étaient mycorhizées, alors qu'à ce même stade 17 variétés n'étaient pas encore mycorhizées et les autres 21 variétés montraient des valeurs intermédiaires de mycorhization. Toutes ces différences s'estompent au stade Epiaison, quand toutes les plantes de chaque variété sont mycorhizées, puis réapparaissent pour 19 variétés au stade Maturité des épis. Les composantes du rendement de blé commencent à se développer dès le stade six feuilles (Hay, 1999). De ce fait les variétés du blé qui se mycorhizent tardivement pourraient être limitées dans leur possibilité de bénéficier des avantages de la symbiose mycorhizienne (Singh *et al.*, 2012).

Une autre donnée importante ressort de ces travaux, à savoir que l'amplitude de cet effet variétal d'aptitude à former des mycorhizes est aussi dépendante des conditions de culture et du nombre de propagules fongiques présent dans un sol. En effet, l'étude approfondie de 4 variétés, choisies parmi les 53 observées au champ, et ne se mycorhizant pas ou très peu au champ, montrent qu'elles sont toutes bien mycorhizées dès le stade tallage en conditions contrôlées de serre avec le même sol du champ. De plus, l'apport d'un inoculum commercial (SYMBIVIT®) contenant de six CMA augmente l'homogénéité des niveaux de mycorhization, qui restent comprises entre 25% et 55% pour les quatre variétés. Bien que des recherches ultérieures soient nécessaires, basés notamment sur une traçabilité plus fines des CMA, ces résultats apportent néanmoins un éclairage nouveau sur les facteurs qui peuvent conditionner l'aptitude des blés à mycorhizer.

En serre, l'apport aux quatre variétés de blé d'un inoculum exogène améliore non seulement le niveau de mycorhization, mais aussi différents aspects du développement végétal selon la variété considérée. L'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> induit précocement, dès le tallage, des effets positifs sur la biomasse des quatre variétés. Par rapport aux blés mycorhizés avec les CMA indigènes, des augmentations sensibles sont observées tant au niveau de la biomasse aérienne que racinaire, allant respectivement de 69,4% à 224,5% et de 50,8% à 158,9%. Cependant, l'effet positif sur la biomasse racinaire s'estompe lors du stade Epiaison pour les deux variétés Blé autrichien et Rouge du Roc, et au stade Maturation des épis chez la variété Blanc de Lorraine. Les valeurs du rapport biomasse racinaire/biomasse aérienne des blés inoculés avec l'inoculum commercial sont inférieures à celles des blés mycorhizés par des CMA indigènes à chaque stade de développement et pour chaque variété, sauf pour Blé de la Saône et le Rouge du Roc au tallage, pour Blé de Lorraine à l'épiaison et pour le Blé autrichien et le Rouge du Roc à la maturité des épis. Des observations similaires ont aussi été faites par Hetrick *et al.* (1992) après apport d'un inoculum produit au laboratoire aux différentes variétés de blé cultivées en serre. La baisse du rapport racine/partie aérienne, obtenue ici avec un inoculum commercial, est considérée traduire une plus grande efficacité des racines mycorhizées (Nemec, 1978).

Les effets de l'inoculum exogène SYMBIVIT<sup>®</sup> sur la production de graines en serre varient aussi fortement d'une variété de blé à l'autre selon qu'on considère le nombre de graines produites, leur poids ou encore leur remplissage. Ainsi chez la variété Blé de la Saône, le nombre de graines par plante, leur poids et leur remplissage sont tous augmentés (respectivement de 28,5%, 47,4% et 10,2%). Pour les autres variétés, on observe une augmentation seulement du remplissage chez Blanc de Lorraine et Rouge du Roc respectivement de 31,4% et 5,7%. Des effets similaires d'un apport de CMA exogènes sur le nombre de grains (Singh *et al.*, 2012) et sur le poids des graines (Trouvelot *et al.*, 1982) ont déjà été constatés chez des variétés différentes aussi cultivées en serre. Par contre, l'inoculation avec SYMBIVIT<sup>®</sup> a un effet inhibiteur chez les variétés Blé autrichien et Rouge du Roc aussi bien sur le nombre et le poids des graines, ainsi que sur leur remplissage chez le Blé autrichien.

L'ensemble de ces résultats obtenus en serre soulignent l'importance du choix variétal pour une utilisation efficace des inocula mycorrhizogènes. Celle-ci a été confirmée au champ, dans des conditions de production d'agriculture biologique, où l'inoculation avec du SYMBIVIT<sup>®</sup> a augmenté sensiblement le rendement en graines de trois des quatre variétés anciennes du blé, à savoir Blé de la Saône (+52,7%), Blanc de Lorraine (+6,3%) et le Blé autrichien (+18,4%). De plus, le test au TTC de viabilité des graines produites au champ montre qu'une meilleure mycorhization augmente, chez les quatre variétés testées, le pourcentage de graines de meilleure qualité (de 17,3 à 57,9%) tout en diminuant le pourcentage des graines de mauvaise qualité (de 50 à 80%). Le taux de germination des graines produits au champ confirme les résultats obtenus avec le test au TTC: les graines issues de plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> montre un pourcentage de germination toujours sensiblement supérieurs, à savoir +34,8% pour le Blanc de Lorraine, +17,1% pour le Blé de la Saône, +13,2 pour le Blé autrichien et +27,3% pour le Rouge du Roc.

Les analyses de la teneur en phosphore des graines de blé produites au champ font apparaître encore une fois l'existence d'une variabilité dans l'effet mycorhizien entre les variétés anciennes. L'enrichissement en phosphore (+5,6%) des graines chez la variété Blanc de Lorraine inoculée avec SYMBIVIT<sup>®</sup> confortent les résultats obtenus sur la viabilité et la germination des graines. Par contre, l'apport d'un inoculum exogène n'a pas modifié le contenu des graines en phosphore des variétés Blé de la Saône et Rouge du Roc, et l'a baissé chez la variété Blé autrichien. Il n'y a donc pas de corrélation entre le contenu en phosphore des graines et l'effet mycorhizien au niveau croissance ou rendement des variétés. De même, Hildermann *et al.* (2010) Hetrick *et al.* (1996) et Azcon et Ocampo (1981) avec des variétés de blé différentes de celles que nous avons utilisées n'ont pas pu corréler la concentration de phosphore dans les tissus des plantes avec leur niveau de dépendance mycorhizienne. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés chez des agrumes (Mehraveran, 1977; Menge *et al.*, 1978; Nemec, 1978), où la concentration de phosphore des tissus végétaux a été corrélée avec la dépendance mycorhizienne.

A notre connaissance, il n'existe pas de la littérature décrivant les effets des CMA sur la viabilité et le pouvoir de germination des graines produites par du blé mycorhizé. De même, nous reportons pour la première fois les effets d'un inoculum commercial sur le rendement et la qualité des graines de variétés anciennes du blé. Le nombre de propagules de CMA capable de générer la symbiose mycorhizienne dans les parcelles avant solarisation a été estimé à environ 2200 propagules par kg de terre. Compte tenu du pouvoir mycorhizogène de l'inoculum leur nombre a du être multiplié environ 100x suite à l'inoculation. Il serait intéressant de préciser le seuil du nombre de propagules de CMA nécessaire à l'expression bénéfique de la symbiose chez les variétés du blé utilisée en agriculture biologique. Si on rapporte à l'hectare (ha) le rendement obtenu lors de notre étude, les plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> donnent des valeurs allant de 17,1 q/ha (Blé de la Saône) à 50,1 q/ha (Blé autrichien) contre respectivement 11,17 q/ha à 42,3 q/ha pour les plantes non inoculées. Pour les variétés Blanc de Lorraine et Rouge du Roc, les valeurs sont respectivement de 38,5 q/ha et 26,5 q/ha pour les plantes inoculées et de 36,2 q/ha à 27,3 q/ha chez les plantes non inoculées. Le système de culture utilisé était très proche des pratiques de l'agriculture biologique, sans apport d'intrants chimiques de synthèse, avec un engrais vert et dans un champ n'ayant pas reçu de composés chimiques de synthèse depuis 2 ans. Les rendements estimés sont, à l'exception du Blé de Saône, tous supérieurs à ceux généralement obtenus en France pour ces variétés en production biologique (Bernard Ronot, Graines de NOE, communication personnelle). Le plus faible rendement du Blé de la Saône, environ la moitié de celui habituellement obtenu (Bernard Ronot, Graines de NOE, communication personnelle), s'explique par le développement de la carie du blé, constatée à la récolte. Malgré l'attaque de *Tilletia caries*, agent de la carie, les plantes inoculées avec SYMBIVIT<sup>®</sup> ont mieux résisté et la perte due à la maladie a été moins ressentie (-24,6% pour les plantes inoculées contre -50,6% pour les plantes non inoculées). A noter que l'effet mycorhizien important chez le Blé autrichien (+18,4%), la variété ancienne la plus productive, devrait attirer l'intérêt des producteurs en agriculture biologique pour la symbiose mycorhizienne.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs sont très reconnaissants à l'association Graines de Noé pour avoir permis d'échantillonner sur leur collection d'anciennes variétés de blé au champ et pour avoir fourni les graines nécessaires aux expérimentations. Les auteurs sont aussi particulièrement reconnaissants à Mr B. Ronot pour ses conseils prodigués et l'aide apporté à la réalisation des expériences. Les auteurs remercient également Drs. D. Redecker et D. van Tuinen pour leur avis dans l'analyse des résultats ainsi que Dr. L. Casieri et Mme. M.L. Bouffaud pour l'aide apportée dans les analyses statistiques des résultats.

## REFERENCES

AN G.H., KOBAYASHI S., ENOKI H., SONOBE K., MURAKI M., KARASAWA T & EZAW T., 2010 – How does arbuscular mycorrhizal colonization vary with host plant genotype? An example based on maize (*Zea mays*) germplasms. *Plant and Soil* 327 (1–2): 441–453. doi:10.1007/s11104-009-0073-3.

AROCA R., VERNIERI P & RUIZ-LOZANO J.M., 2008 – Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting re-sponses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *Journal of Experimental Botany* 59(8): 2029–2041. doi:10.1093/jxb/ern057. PMID: 18469324.

ATUL-NAYYARA A., HAMEL C., HANSON K & GERMIDA J., 2009 – The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza* 19(4): 239–246. doi:10.1007/s00572-008-0215-0. PMID:19101737.

AUBERTO J.N., BARBIER J.M. A., CARPENTIER A., GRIL J.J., GUICHARD L., LUCAS P., SAVARY S., SAVANI I & VOLTZ M. (éds.), 2005 – Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France) 64 p.

AZCÓN R & OCAMPO J.A., 1981 – Factors affecting the vesicular arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytologist* 87(4): 677–685. doi:10.1111/j.1469-8137.1981.tb01702.x.

BAREA J.M & AZCÓN-AGUILAR C., 1983 – Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances Agronomy* 36: 1–54. doi:10.1016/S0065-2113(08)60351-X.

BERTHEAU Y., GIANINAZZI-PEARSON V., GIANINAZZI S., 1980 – Développement et expression de l'association endomycorhizienne chez le blé. I. Mise en évidence d'un effet variétal. *Annales de l'Amélioration des Plantes* 30, 67-68.

BONNEUIL C., THOMAS F & PETITJEAN O., 2012 – Semences : une histoire politique. *Ed Charles Léopold Meyer*. ISBN 978-2-84377-165-1.213p

CAUSSANEL J.P., 1996 – Concurrence, compétition et nuisibilité des mauvaises herbes. 16ème Conférence du Columa sur la lutte contre les mauvaises herbes. *Phytoma* 484 : 21-24.

DAVIS E.A & YOUNG J.L., 1985 – Endomycorrhizal colonization of glass-house grown wheat as influenced by fertilizer salts when banded or soil mixed. *Canadian Journal of Botany* 63:1196-1203.

ESSIANE ONDO O., 2010 – Etude du potentiel mycorhizotrophe de différentes variétés de blé et impact sur la qualité du grain. Mémoire de master. Université de Bourgogne. Dijon, France. 35 pages

FAO., 2010 – Global Forest Resources Assessment 2010 Main Report. FAO.

FARMER M.J., Li X., FENG G., Zhao B., CHATAGNIER O., GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON V. et VAN TUINEN D., 2007 – Molecular monitoring of field-inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China. *Applied Soil Ecology*, 35, 599-609.

FITTER A.H., 2004 – Magnolioid roots hairs, architecture and mycorrhizal dependency. *New Phytologist* 164(1): 15–16. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01193.x.



FIXEN P.E., BRUULSEMA T.W., JENSEN T.L., MIKKELSEN R., MURREL T.S., PHILLIPS S.B., RUND Q et MIKE STEWART W., 2010 – The fertility of North American soils. *Better Crops Plant Food* 94(4): 6–8.

FRIEDEL J.K., JAKUPAJ S., GOLLNER M., HRBEK R., FLAMM C., OBERFORSTER M., ZECHNER E., KINASTBERGER A et LÖSCHENBERGER F., 2008 – Mycorrhization of winter wheat cultivars in organic farming Poster at: Cultivating the Future Based on Science: 2nd Conference of the International Society of Organic Agriculture Research ISOFAR, Modena, Italy, June 18-20, 2008.

GIANINAZZI S., GOLLOTTE A., BINET M.N., VAN TUINEN D., REDECKER, D & WIPF D., 2010 – Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20(8): 519–530. doi: 10.1007/s00572-010-0333-3. PMID: 20697748.

GRABE D.F., 1970 – Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds: Contribution no. 29. *Association of Official Seeds Analysts*. 62 p.

GRENY A., 1973 – Etudes anatomo-morphologiques des endomycorhizes constituées par le maïs, l'avoine, le blé, l'orge et diverses graminées prairiales et adventices. Mémoire d'Ingénieur. Université de Rouen, Rouen, France 248p.

GRIFFON. M., 2013 – Qu'est ce que l'agriculture écologiquement intensive?. Editions Quae.

HALLETT P.D., FEENEY D.S., BENGOUGH A.G., RILLING M.C., SCIM-GEOUR C.M & YOUNG I.M., 2009 – Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and Soil* 314(1–2): 183–196. doi:10.1007/s11104-008-9717-y.

HASELWANDTER K. & BOWEN G.D., 1996 – Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. *Forest Ecology Management* 81(1–3): 1–17. doi:10.1016/0378-1127(95)03661-X.

HAY, R.K.M., 1999. Physiological control of growth and yield in wheat: analysis and synthesis. In Crop yield. Physiological processes. *Edited by D.L. Smith and C. Hamel. Springer, Berlin*. pp. 1–38.

HETRICK B.A.D., WILSON G.W.T & COX T.S., 1992 – Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Canadian Journal of Botany* 70(10): 2032–2040. doi:10.1139/b92-253.

HETRICK B.A.D., WILSON G.W.T & TODD T.C., 1996 – Mycorrhizal response in wheat cultivars: relationship to phosphorus. *Canadian Journal of Botany* 74(1): 19–25. doi:10.1139/b96-003.

HETRICK B.A.D., WILSON G.W.T., GILL B.S & COX T.S., 1995 – Chromosome location of mycorrhizal responsive genes in wheat. *Canadian Journal of Botany* 73(6): 891–897. doi:10.1139/b95-097.

HILDERMANN I., MESSMER M., DUBOIS D., BOLLER T., WIEMKEN A & MADER P., 2010 – Nutrient use efficiency and arbuscular mycorrhizal root colonisation of winter wheat cultivars in different farming systems of the DOK long-term trial, J. *Science of Food and Agriculture* 90, 2027–2038.

JANOUSHKOVÁ M & PAVLÍKOVÁ D., 2010 – Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium. *Plant and Soil*, 332(1–2): 511–520. doi:10. 1007/s11104-010-0317-2.

JAVAID A., 2009 – Arbuscular mycorrhizal mediated nutrition in plants. *Journal of Plant Nutrition* 32(10): 1595–1618. doi:10.1080/ 01904160903150875.

KAEPPLER S.M., PARKE J.L., MUELER S.M., SENIOR L., STUBER C & TRACY W.F., 2000 – Variation among maize inbred lines and detection of quantitative trait loci for growth at low phosphorus and responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi. *Crop Science* 40 (2): 358–364. doi:10.2135/cropsci2000.402358x.

KHAOSAAD T., VIERHEILIG H., NELL M., ZITTERL-EGLESEER K., NOVAK J., 2006 – Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16: 443-446.

LIU A., HAMEL C., ELM I A., COSTA, C., MA B.L & SMITH D.L., 2002 – Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Canadian Journal of Soil Science* 82(3): 272–278. doi:10.4141/S01-022.

LIU A., HAMEL C., HAMILTON R.I & SMITH D.L., 2000a – Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf architecture as influenced by soil N and P levels. *Plant and Soil* 221(2): 157–166. doi:10.1023/A:1004777821422.

LIU A., HAMEL C., HAMILTON R.I MA B.L., & SMITH D.L., 2000b – Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9(6): 331–336. doi:10.1007/s005720050277.

LIU J., MALDONADO-MENDOZA I., LOPEZ-MEYER M., CHEUNG F., TOWN C.D & HARRISON M.J., 2007 – Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *The Plant Journal* 50(3): 529–544. doi:10.1111/j.1365-3113X.2007.03069.x. PMID:17419842.

LOVATO P.E., GIANINAZZI-PEARSON V., TROUVELOT A., GIANINAZZI S., 1996 – The state of art of mycorrhizas and micopropagation. *Advances in Horticultural Science* 10, 46-52

MARSCHNER P., SOLAMANN Z and RENGEL Z., 2005 – Growth, phosphorus uptake and rhizosphere microbial-community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168:343 – 351.

MASON H.E & SPANER D., 2006 – Competitive ability of wheat in conventional and organic management systems: A review of the literature. *Canadian Journal of Plant Science* 86(2) 333–343.

MEHRAVERAN H., 1977 – Mycorrhizal dependency of six citrus cultivars. Ph. D. thesis. University of Illinois.

MENGE J.A., JOHSON E.L.V & PLATT R.G., 1978 – Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytologist* 81, 553-559.

NEMEC S., 1978 – Response of six citrus rootstocks to three species of Glomus, a mycorrhizal fungus. *Proceeding of Florida Stale Horticulture Society* 91, 10-14.

PANDEY R., SINGH B & NAIR T.V.R., 2005 – Impact of arbuscular– mycorrhizal fungi on phosphorus efficiency of wheat, rye, and triticale. *Journal of Plant Nutrition* 28(10): 1867–1876. doi:10.1080/ 01904160500251381.

PARADIS R., DALPE Y & CHAREST C., 1995 – The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat. *New Phytologist* 129: 637-642.

PHILLIPS J.M & HAYMAN D.S., 1971 – Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycology Society* 55, 158-161.

RYAN M.H., CHILVERS G.A and DUMARESQ D.C., 1994 – Colonization of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on a conventional neighbor. *Plant and Soil* 160:33–40.

SHAUL O., GALILI S., VOLPIN H., GINZERBERG I., ELAD, Y., CHET I & KAPULNIK Y., 1999 – Mycorrhiza-induced changes in disease severity and PR protein expression in tobacco leaves. *Molecular Plant–Microbe Interactions* 12(11): 1000–1007. doi:10.1094/MPMI.1999.12.11.1000. PMID:10550896.

SHETTY K.G., HETRICK B.A.D., CHWAB A.P., 1995 – Effects of mycorrhizae fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution* 88: 307-314.

SINGH A.K., HAMEL C., DEPAUW R.M & KNOX R.E., 2012 – Genetic variability in arbuscular mycorrhizal fungi compatibility supports the selection of durum wheat genotypes for enhancing soil ecological services and cropping systems in Canada. *Canadian journal of microbiology* 58(3), 293-302.

SMITH S.E & READ D.J., 1997 – Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. Academic Press, San Diego, Calif. USA.

SNEDECOR G.W., et COCHRAN G.W., 1971 – Méthodes Statistiques. 6e ed A.C.T.A., paris.

SNYDER C.S., BRUULSEMA T.W., JENSEN T.L & FIXEN P.E., 2009 – Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, and Ecosystems Environment* 133(3–4): 247–266. doi:10.1016/j.agee.2009.04.021.

ST-ARNAUD M, HAMEL C, CARON M, FORTIN J.A., 1995a – Endomycorhizes VA et sensibilité des plantes aux maladies: synthèse de la littérature et mécanismes d'interaction potentiels. In: Fortin JA, Charest C, Piché Y, eds. La symbiose mycorhizienne-état des connaissances. *Frelighsburg, Canada: Orbis Publishing* 51-87.

SUBRAMANIAN K.S., CHAREST C., DWYER L.M., HAMILTON R.I., 1995 – Arbuscular mycorrhiza sand water relations in maize under drought stress tesseling. *New Phytologist* 129: 643-650.

SYLVIA D.M & WILLIAMS S.E., 1992 – Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environnemental stress. In. Mycorrhizae sustainable Agriculture. *G.J.Betlhenfalvay, R.G Linderman Eds ASA Special Publication Number 54, Madison Wisconsin* 101-124.

TROUVELOT A., GIANINAZZI-PEARSON V., GIANINAZZI, S., 1982 – Les endomycorhizes en agriculture; recherches sur le blé. In: Les mycorhizes : biologie et utilisation (p. 251-256). Presented at Les mycorhizes : biologie et utilisation, Dijon, FRA (1982-05-05 - 1982-05-06). Paris, FRA : INRA Editions.

TROUVELOT A., KOUGH J.L., GIANINAZZI-PEARSON V., 1986 – Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: "Physiological and genetical aspects of mycorrhizae". Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. Eds. INRA, Paris, 217-221.

WAGG C., JANSÁ J., SCHMID B., & VAN DER HEIJDEN M.G., 2011 – Belowground biodiversity effects of plant symbionts support aboveground productivity. *Ecology letters* 14(10), 1001-1009

WORLD BANK PUBLICATIONS., 2013 – The World Bank Annual Report 2013. *World Bank Publications*.

XAVIER L.J.C & GERMIDA, J.J., 1998 – Response of spring wheat cultivars to *Glomus clarum* NT4 in a P-deficient soil containing arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Soil Science* 78(3): 481–484. doi:10.4141/S97-106.

YIN B., WANG Y., LIU P., HU J & ZHEN W., 2010 – Effects of vesicular–arbuscular mycorrhiza on the protective system in strawberry leaves under drought stress. *Frontiers of Agriculture in China* 4 (2): 165–169. doi:10.1007/s11703-010-0109-8.

YOUNG J.L., DAVIS E.A & Rose, S.L., 1985 – Endomycorrhizal fungi in breeder wheats and triticale cultivars field-grown on fertile soils. *Agronomy Journal* 77(2): 219–224. doi:10.2134/agronj1985.00021962007700020011x.

YÜCEL C., ÖZKAN H., Ortas, I & YAĞBASANLAR, T., 2009 – Screening of wild emmer wheat accessions (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) for mycorrhizal dependency. *Turkish Journal of Agriculture and Forest* 33 (5): 513–523.

ZHU Y.G., SMITH S.E., BARITT A.R & SMITH F.A., 2001 – Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. *Plant and Soil* 237(2): 249–255. doi:10.1023/A:1013343811110.

## LEGENDES DES FIGURES

**Fig.1 :** Aptitude à se mycorhizer au champ de 53 variétés anciennes de blé selon le stade phénologique du développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis). Chaque colonne représente une plante échantillonnée. Selon la variété on observe des cinétiques différentes de mise en place de la mycorhization.

Ability of 53 old wheat varieties to form mycorrhiza in the field at three phenological stages of development (tillering, spiking, grain ear maturity). Each column represents a sampled plant? Different kinetics of mycorrhizal establishment are observed according to the variety.

**Fig.2 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le taux de mycorhization fréquence (F%), intensité (M%) et taux d'arbuscules (A%) des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc selon le stade phénologique du développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis) et le traitement : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum on the mycorrhization (frequency (F%), intensity (M%), and arbuscular rate (A%)) of the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc according to phenological stage of development and the treatment: in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT® inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).

**Fig.3 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène en serre sur le développement des biomasses aérienne (BA) et racinaire (BR) des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc selon le stade phénologique du développement (Tallage, Epiaison, Maturité des épis) et le traitement : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'inoculation de SYMBIVIT® (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum in the greenhouse on shoot (BA) and root (BR) biomass of the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc according to phenological stage of development and the treatment: in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT® inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).

**Fig.4 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur la production des graines en serre (nombre, poids/plante, poids/graine) des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum in the greenhouse on grain production (number, weight/plante, weight/grain) of the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc: in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT® inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  ( $n = 5$ ).



**Fig.5 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène au champ sur le rendement en poids de graines par plante des variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum in the field on grain yield per plant of the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc: in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT® inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

**Fig.6 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur la viabilité (qualité) des graines produites au champ par les variétés Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT® (I). Q<sub>1</sub> : graines d'excellente qualité, Q<sub>2</sub> : graines de qualité moyenne et Q<sub>3</sub> : graines de mauvaise qualité. Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum in the field on grain viability (quality) of the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc according : in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT® inoculum (I).

Q<sub>1</sub>: excellent quality grain, Q<sub>2</sub>: average quality grain and Q<sub>3</sub>: bad quality grain. Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

**Fig.7 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le pouvoir de germination des graines produites aux champ par les variétés Blanc de lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha=0.05$  (n = 5).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum on the germination ability of grains produced in the field by the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc: in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT<sup>®</sup> inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

**Fig.8 :** Influence de l'apport d'un inoculum exogène sur le taux de phosphore des graines produites aux champ par les variétés Blanc de lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien et Rouge du Roc : en présence d'une population indigène de champignons mycorrhizogènes (NI) et après l'apport de l'inoculum SYMBIVIT<sup>®</sup> (I). Les bars avec les même lettre ne sont pas différentes selon le test LSD à  $\alpha=0.05$  (n = 5).

Influence of an exogenous mycorrhizal inoculum on the phosphorus content grains produced in field by the varieties Blanc de Lorraine, Blé de la Saône, Blé autrichien and Rouge du Roc : in presence of an indigenous population of mycorrhizal fungi (NI) and after the addition of SYMBIVIT<sup>®</sup> inoculum (I). Bars with the same letter are not different, according to LSD at  $\alpha = 0.05$  (n = 5).

## FIGURES

Fig.1

Variétés	Echantillons								
	Tallage			Epiaison			Maturité des épis		
Touzelle									
<b>Rouge du Roc</b>									
Rouge d'Alsace									
Rouge d'alkirch									
RLGK									
Renan									
Redon									
Prince Albert									
Poulard de Beauce									
Poulard d'Australie									
Petit rouge du morvan									
Nonette de Losane									
Noe									
Mottin									
korazan									
Jejar espagnol									
James									
Huabey									
Haut brionnais mutique									
Goldendrop									
Engrain Noir									
Engrain allmand									
Engrain									
Emmer Noir									
Dattel									
Concorde									
Chiddam d'automne									
Capelli									
Blé pharaon									
Blé du Morvan									
Blé du Maroc									
Blé du Jura									
Blé des Vosges									
<b>Blé de la Saône</b>									
<b>Blé autrichien</b>									
<b>Blanc de Lorraine</b>									
Barbu du Maconnais									
Automne rouge									
Atar									
Amidonnier blanc									
Alauda									
93									
80									
48									
46									
42									
37									
21									
16									
14									
8									
7									
5									



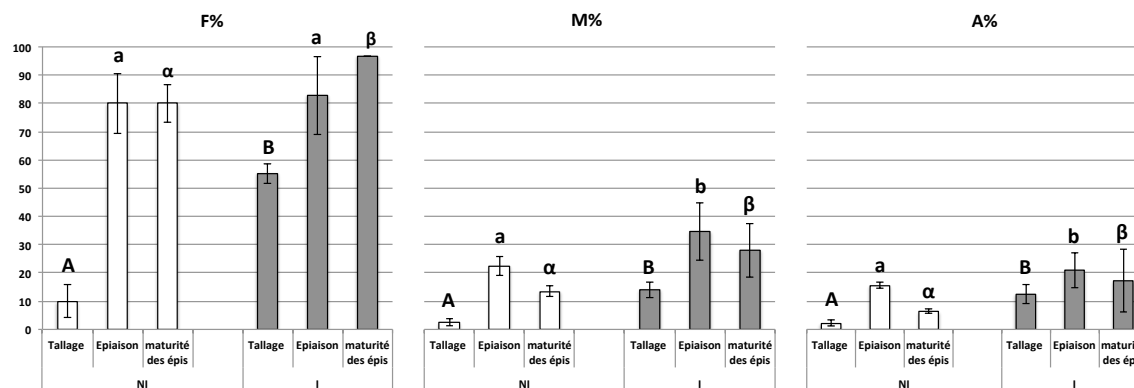
Echantillon non mycorhizé



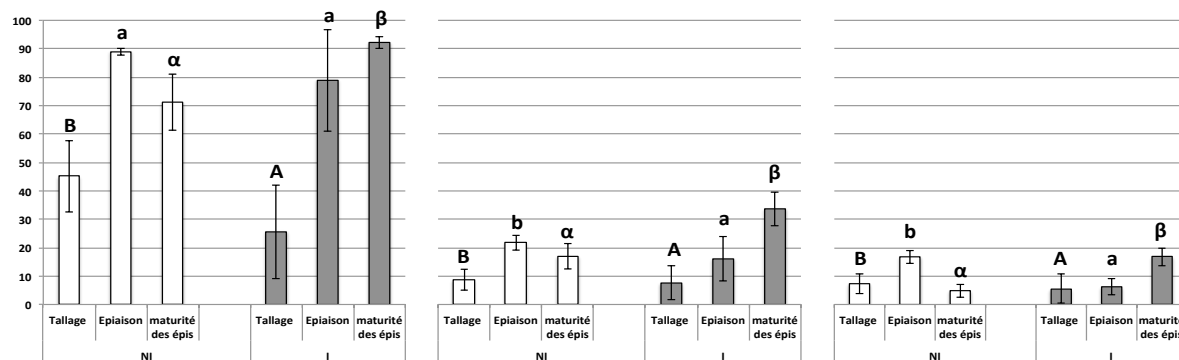
Echantillon mycorhizé

**Fig.2**

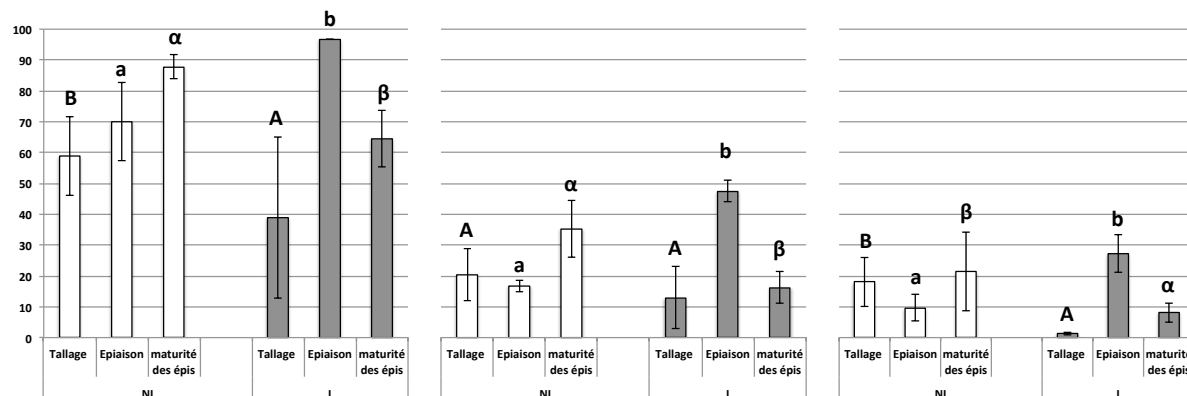
**Blanc de Lorraine**



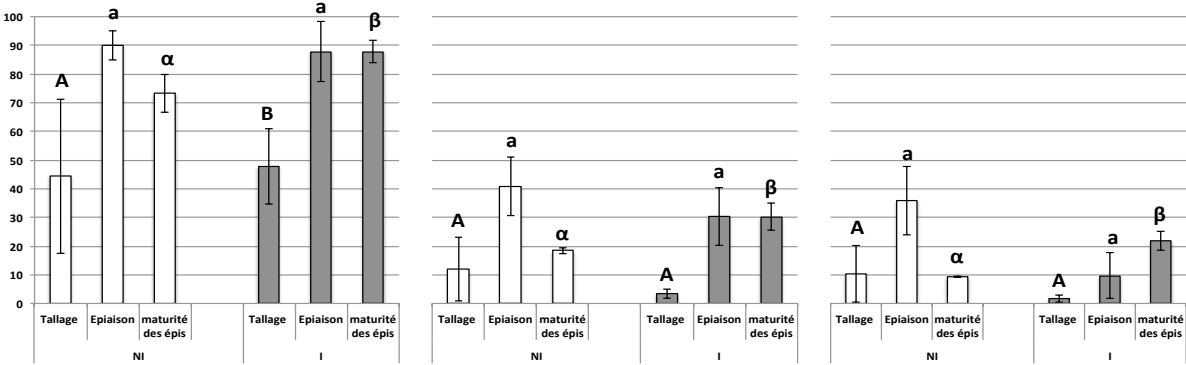
**Blé de la Saône**



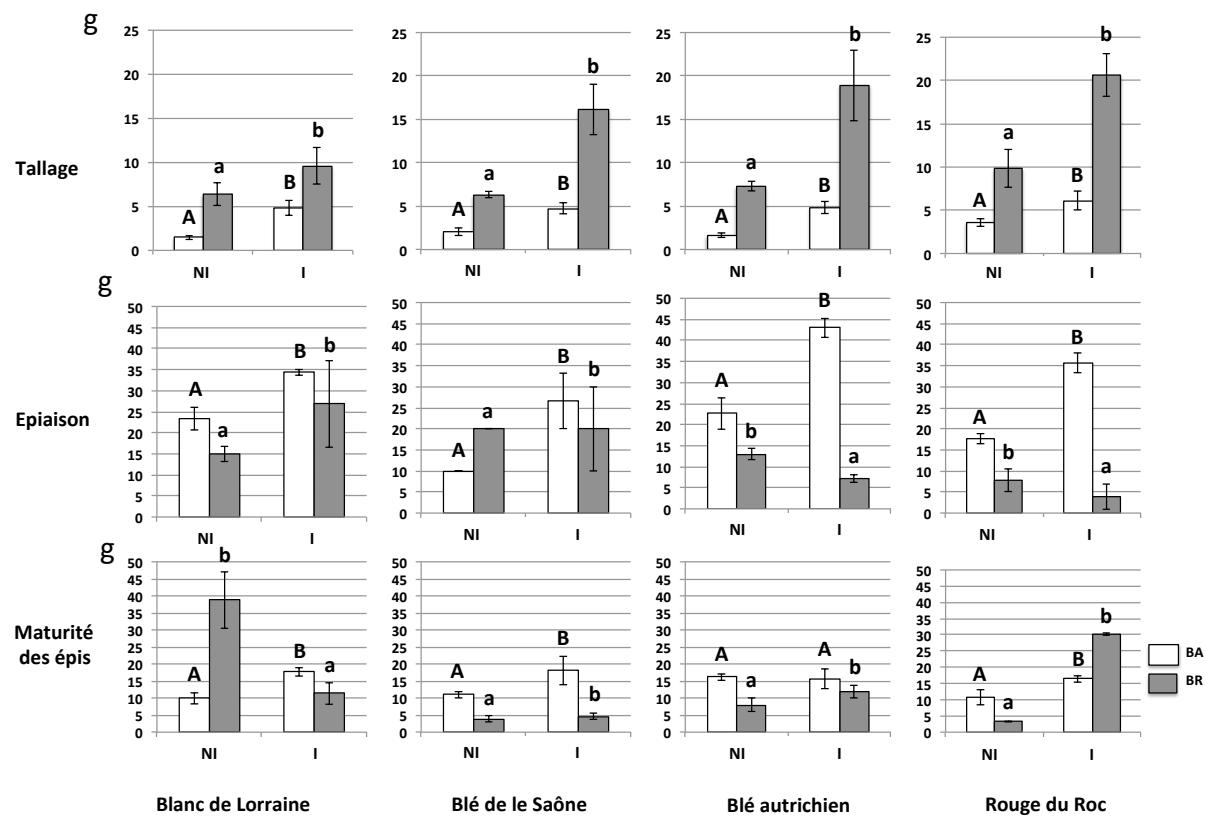
**Blé autrichien**



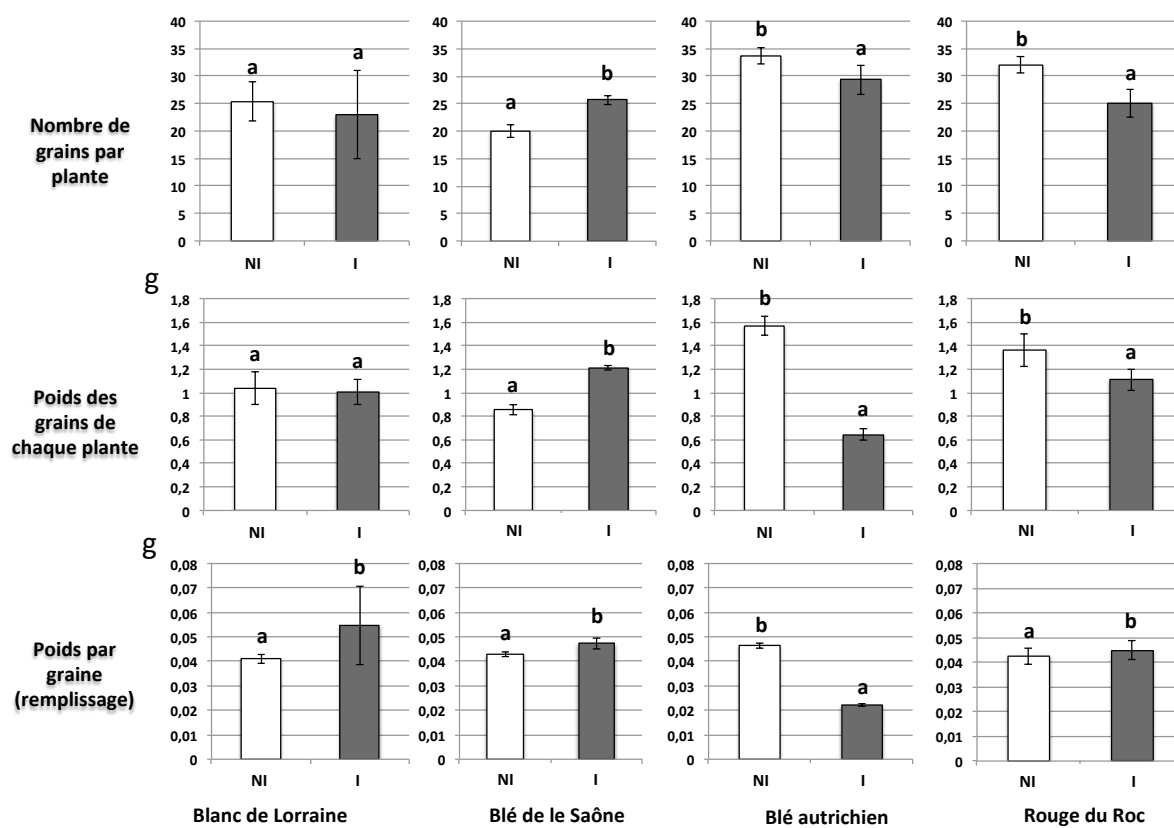
Rouge du Roc



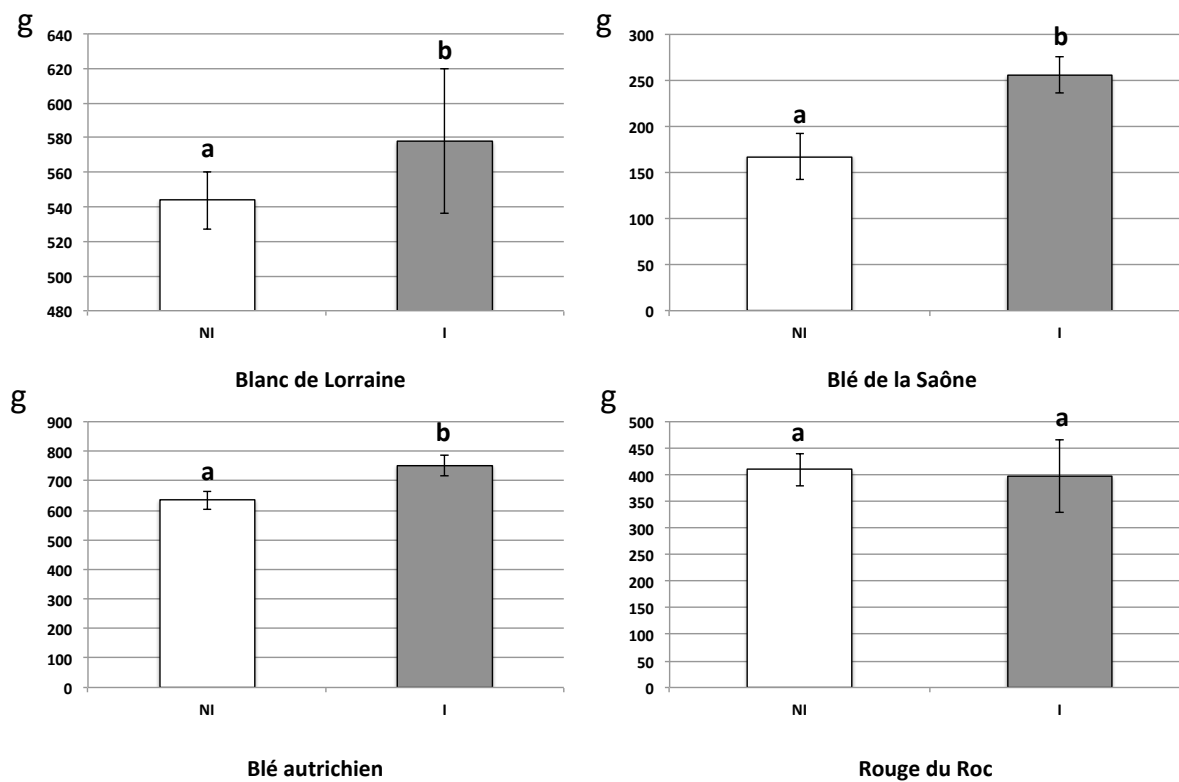
**Fig.3**



**Fig.4**

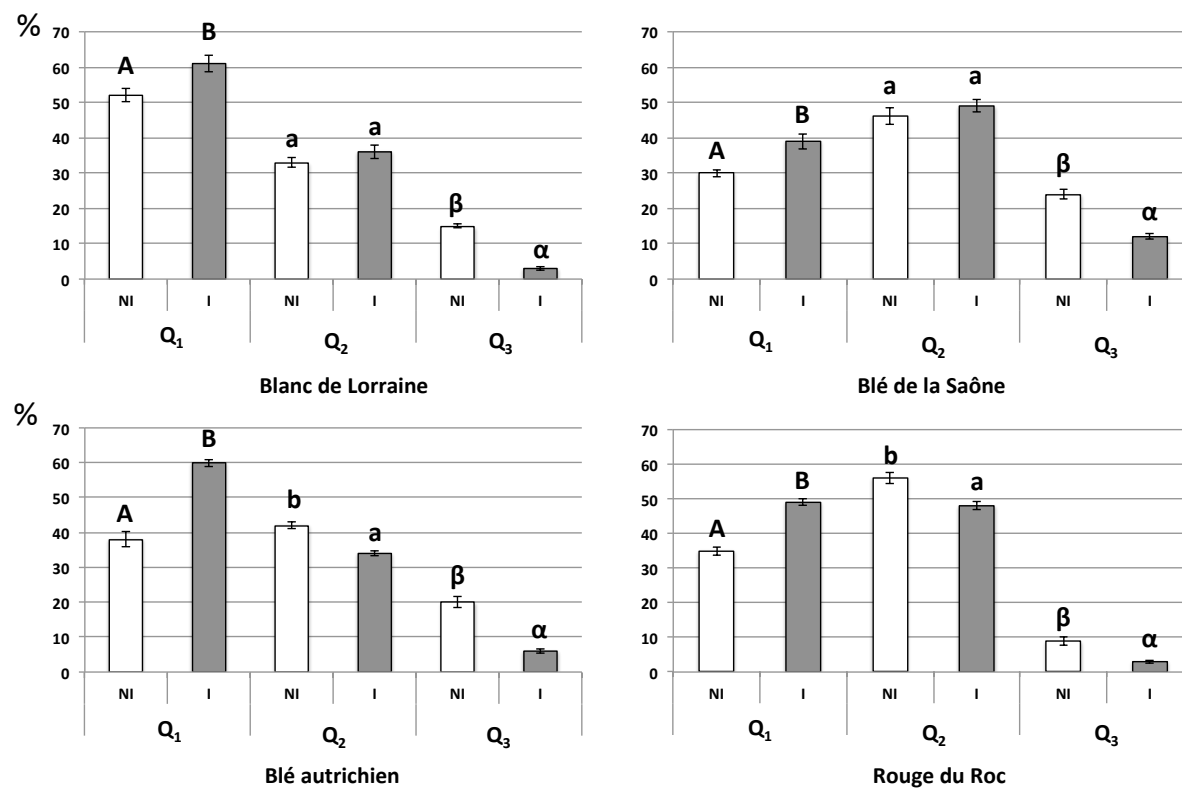


**Fig.5**

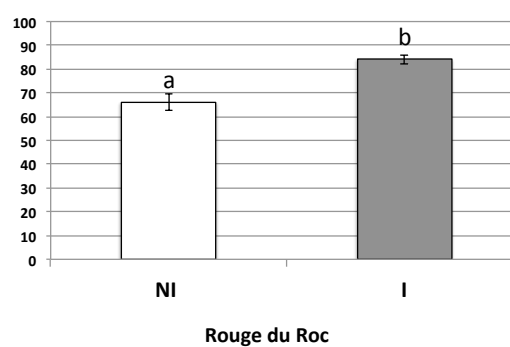
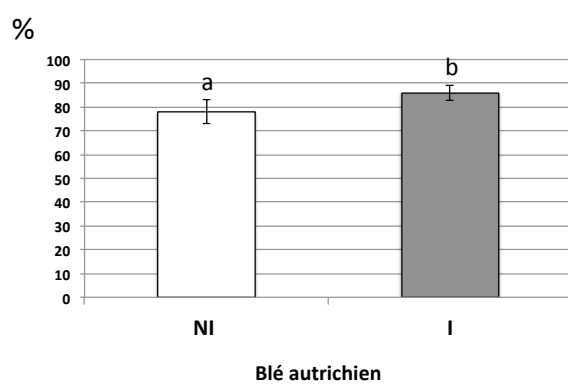
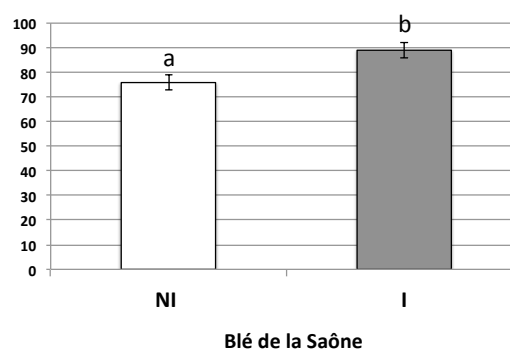
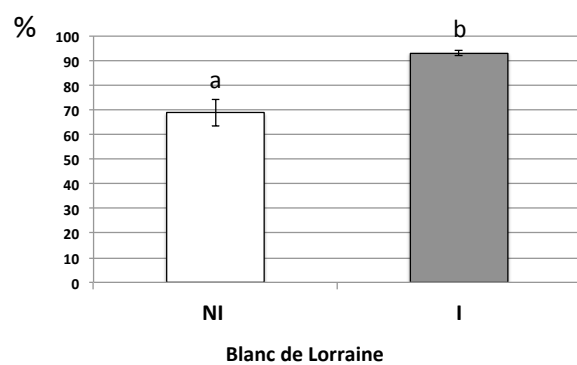




**Fig.6**



**Fig.7**



**Fig.8**

